Genetica Umana

Constantin Maximilian

Editura Științifică și Enciclopedică, București, 1982

INTRODUCERE

Apariţia geneticii a constituit un moment de referinţă în istoria ştiinţei. Această disciplină îşi propune înţelegerea genezei şi evoluţiei vieţii şi implicit a complexităţii mecanismelor care condiţionează individualitatea, în întreaga ei desfăşurare normală şi patologică.

Unii autori apreciază chiar că în zilele noastre biologia umană nu poate fi concepută fără genetică, după cum, în aceleaşi condiţii, medicina nu ar înţelege capitole întregi din patologie. Aşa este Gedda (1967) care afirmă că „medicina celei de-a doua jumătăţi a secolului XX este dominată de geniul lui Mendel". Ea a impus concluzia atît de fecundă că originea multor boli se află în interiorul organismului. Şi chiar dacă factorul primar trebuie căutat în afara lui, reactivitatea individuală este condiţionată genetic. Vechiul aforism al lui Ambroise Paré — conform căruia nu există boli, ci numai bolnavi — se sprijină astfel pe un solid suport faptic. Dar acest mare adevăr trebuie extins, aşa cum făcea şi Gedda: nu există boli, există numai familii de bolnavi.

Concepţia oferă o nouă perspectivă medicinii, obligînd-o să treacă de la individ la familie şi uneori dincolo de ea, la populaţie. Dar ereditatea nu este singurul factor implicat în patologie. Un rol important îl joacă mediul. Întreaga existenţă a omului, din momentul fecundaţiei pînă în cel al morţii, este rezultatul interacţiunii acestor două elemente. După cum se ştie, genetica este produsul secolului XX. Dar observaţii asupra particularităţilor normale sau anormale ale individului s-au făcut de mult. De pildă, în Talmud se menţiona că o femeie care şi-a circumcis primul fiu şi el a murit şi la fel s-a întîmplat şi cu cel de-al doilea nu mai are voie să-l circumcidă şi pe următorul. Un alt exemplu: indienii au bănuit existenţa diabetului zaharat şi au dat primele sfaturi genetice.

În secolul al XVIII-lea şi mai ales în veacul următor s-au publicat numeroase informaţii asupra aspectelor familiale ale malformaţiilor congenitale. Un loc cu totul aparte în istoria geneticii îl ocupă volumul lui J. Adams, *Tratat asupra proprietăţilor presupus ereditare ale bolilor, pornind de la observaţia clinică.* Adams nota că soţii consangvini nasc mai frecvent copii anormali decît soţii neînrudiţi. Tot el remarcase că în satele mici şi izolate frecvenţa tulburărilor ereditare creşte. Adams a fost foarte aproape de descoperirea eredităţii recesive.

În acelaşi timp Otto (1803) a descris o familie de hemofilici: „...numai bărbaţii sînt supuşi acestei stranii afecţiuni..., dar nu toţi sînt susceptibili. Deşi femeile nu fac boala, ele sînt capabile s-o transmită băieţilor lor". Prin aceste observaţii, Otto contura caracteristicile eredităţii recesive legate de sex.

Cîteva decenii mai tîrziu, G. W. Huntington, analizînd modul de transmitere al coreei, tulburare care avea să-i poarte numele, scria: „cînd unul sau ambii părinţi prezintă manifestările bolii şi în special cînd aceste manifestări sînt severe, unul sau mai mulţi descendenţi suferă aproape invariabil de boală, dacă ajung pînă la vîrsta adultă. Dacă din întîmplare aceşti copii trec prin viaţă fără să facă boala, ameninţarea dispare şi nepoţii şi strănepoţii primului bolnav pot fi siguri că nu vor fi bolnavi".

Huntington descria clar transmiterea dominantă.

Deseori însă în această perioadă preştiinţifică nu se făcea nici o distincţie între familial şi ereditar. Se vorbea frecvent despre natura ereditară a sifilisului sau a tuberculozei.

În 1865 a apărut o lucrare care avea să revoluţioneze întreaga gîndire biologică, şi anume lucrarea lui Mendel, *Cercetări asupra hibrizilor la plante*. După opt ani de cercetări experimentale, G. Mendel stabilea principiile transmiterii caracterelor ereditare. Simultan, Galton conchidea că „geniul" implică o bază ereditară. La sfîrşitul aceluiaşi deceniu, Ch. Darwin publica *Originea speciilor*, actul de naştere al evoluţionismului modern.

Destinul celor trei opere a fost diferit. Mendel nu a fost înţeles de contemporanii lui, fiind redescoperit abia în zorii secolului XX. Galton a fost citit şi crezut. Darwin a generat valuri de discuţii contradictorii.

Odată cu redescoperirea lui Mendel s-a născut genetica sau — după numele pe care i l-a dat Bateson (1906) — ştiinţa eredităţii.

Începutul veacului a adus şi primele mari descoperiri: universalitatea legilor mendeliene, ideea că unităţile elementare ale eredităţii, genele, sînt situate pe cromozomi, dovada experimentală a unei presupuneri mai vechi, conform căreia cromozomii au un rol major în dezvoltare. Tot în acea perioadă se contura şi genetica populaţiilor.

Genetica umană urmărea un singur scop: identificarea caracterelor mendeleene la om. Încă din 1901, Bateson sugerase că alcaptonuria, o eroare metabolică descrisă de Garrod, una dintre puţinele tulburări biochimice cunoscute atunci, se datoreşte unei gene recesive în formă homozigotă. Patru ani mai tîrziu, W. C. Farabee raporta o familie cu brahidactilie, conchizînd că malformaţia este condiţionată de o mutaţie dominantă.

Informaţiile începeau să se acumuleze rapid.

Prima parte a secolului a fost dominată de cercetările lui Th. Morgan şi ale colegilor lui, Bridges, Sturtevant, Müller. Ei au descoperit importanţa cromozomilor, succesiunea genelor pe cromozomi, au descris numeroase mutaţii. Müller a deschis un capitol nou în genetică — radiogenetica. El a adus prima dovadă că radiaţiile ionizante măresc rata de mutaţii.

Despre structura cromozomilor, despre natura genei şi, evident, despre funcţia ei nu se ştia nimic. În 1944, O. T. Avery, C. M. MacLeod şi M. McCarty demonstrau că acizii nucleici ai unei suşe bacteriene pot transforma structura genetică a altei suşe bacteriene. Era o observaţie remarcabilă. Devenea cert că particularităţile genetice pot fi modificate fie de radiaţii, fie specific, prin intermediul acizilor nucleici, cel puţin la organismele inferioare. După numai doi ani, J. Lederberg descoperea un fenomen nebănuit — caracterele genetice ale unei bacterii pot fi transferate altei bacterii prin intermediul bacteriofagului.

Se contura astfel mereu mai clar ipoteza că mesajul genetic este purtat de acizii nucleici. Elucidarea structurii lor era o problemă de timp. În 1953 F. H. Crick şi J. D. Watson, pornind de la cercetările lui M. H. Wilkins, de difracţie a acizilor nucleici cu raze X, au prezentat modelul structurii ADN-ului, sub forma unei duble elice, care explica cel puţin două fenomene fundamentale — replicarea şi mu-

tația. Curînd după aceea au fost descoperiți acizii ribonucleici și se schița mecanismul sintezei proteinelor. Rămînea încă o mare necunoscută — codificarea mesajului genetic. Soluția a venit neașteptat de repede. În doar cîțiva ani codul genetic a fost descifrat și odată cu elucidarea acestei mari necunoscute a fost reformulat și conceptul o genă — o secvență de deoxiribonucleotide care codifică un mesaj specific.

În această perioadă de efervescență, o altă echipă de cercetători — A. Lwoff, J. Monod și F. Jacob —, la capătul unor experiențe de o superbă eleganță, impunea concluzia că funcționarea celulei cere prezența mai multor tipuri de gene.

Universul genetic începea astfel să se clarifice. Cercetările acestui deceniu au demonstrat însă că fenomenele ereditare sînt extrem de complexe, mult mai complexe decît se credea la sfîrșitul deceniului trecut.

Ultimii ani au fost dominați de ingineria genetică. Ea nu ar fi fost însă posibilă fără descoperirea enzimelor restrictive, enzime capabile să secționeze filamentul de ADN în puncte specifice și fără sinteza genelor.

Mult timp genetica umană a fost beneficiara cercetărilor experimentale realizate pe plante și animale. Ea extrapola rezultatele presupunînd că legile eredității sînt universale. Presupunerea era dintr-o colecție de observații într-o știință independentă cu largi aplicații. Genetica nu putea face mai mult. Nu numai pentru că nu avea o bază adecvată, ci și pentru că medicina avea de rezolvat alte probleme mult mai acute, ca bolile infecto-contagioase. Apoi omul nu devenise încă un obiect de investigații genetice. Geneticienii preferau animalele, ușor de manipulat și ușor de urmărit de-a lungul unui mare număr de generații.

În doar cîteva decenii o serie remarcabilă de descoperiri au asigurat geneticii o poziție prioritară în biologie și medicină. Este suficient să reamintim nașterea patologiei moleculare, capitol care avea să dea o nouă dimensiune medicinii, apariția citogeneticii, posibilitatea de a diagnostica corect un număr mereu mai mare de tulburări ereditare, detectarea heterozigoților, monitorizarea prenatală a grupelor cu risc mare și descoperirea unor tratamente eficiente în multe boli ereditare.

Evident, s-a schimbat și conceptul de boală. Prin sănătate se înțelege starea de echilibru a organismului cu mediul său. Boala înseamnă o rupere a acestui echilibru. Ea poate fi determinată fie de o anomalie genetică, fie de un factor de mediu. Genetica accentuează importanța factorului intern, genetic, iar medicina, importanța factorului extern. Din punct de vedere strict medical toți indivizii au același risc în condiții date de mediu. Din punct de vedere genetic fiecare individ are un risc specific pentru o tulburare particulară.

Explozia geneticii a fost favorizată și de modificarea spectrului patologiei umane. Bolile infecto-contagioase, unul dintre coșmarurile umanității, au fost stăpînite, mortalitatea infantilă a coborît impresionant. S-a schimbat astfel și profilul spitalelor de pediatrie. Locul maladiilor infecto-contagioase a fost luat de erorile înnăscute de metabolism și de malformațiile congenitale genetice sau parțial genetice.

Cîteva date vor ilustra afirmațiile anterioare. Aproximativ 1,5% dintre toți copiii născuți vii au o anomalie cromozomală oarecare. Procentul ajunge la 5 printre copiii născuți morți sau care mor în primele 7 zile după naștere și la 50 printre embrionii eliminați spontan.

Printre copiii internați în spitale aproximativ 12% au o tulburare oarecare condiționată de o singură mutație genetică, de o anomalie cromozomală sau multifactorială. Alți 18% au o malformație congenitală comună, parțial genetică.

Dintre adulții internați în spitale 12% au tulburări ereditare sau parțial ereditare.

În sfîrșit, aproximativ 60% dintre copiii cu înapoiere mintală severă sînt handicapați genetic (Scriver și colab., 1978). Firește, există și importante variații geografice. O serie de tulburări condiționate de o singură mutație genică ating valori foarte ridicate în unele grupe etnice: tirozinemia ereditară printre descendenții francezilor emigrați în Canada acum un secol, nefroza congenitală în Finlanda... etc. După toate probabilitățile, procesul va continua. Nu se știe însă cert dacă va crește sau nu procentul bolilor ereditare. Părerile sînt împărțite. Cei mai mulți geneticieni cred că frecvența bolilor ereditare se va amplifica, fie ca o consecință a creșterii numărului surselor mutagene, fie ca expresie a progreselor medicinii, a faptului că mulți handicapați genetic se vor reproduce și vor transmite implicit și mutația specifică. S-a calculat, pentru a da numai un exemplu, că frecvența genei pentru fenilcetonurie se va dubla în

143 de generații. Dacă presupunerea este corectă, atunci în jurul anului 4000 frecvența bolii va fi de 1/5041 și nu de 1/20 000 cît este acum în S.U.A. și în Marea Britanie (Theile, 1977). Firește, se va întîmpla așa doar dacă nu se va institui o politică profilactică eficientă.

Oricum, este sigur că se vor identifica mereu noi entități ereditare. Pînă acum s-au descoperit cel puțin 2500 și în fiecare an se adaugă încă o sută. Se presupune că multe dintre sindroamele malformative cu origine necunoscută încă sînt rezultatul unei anomalii cromozomale fine, nedetectabile cu mijloacele actuale, sau al unor mutații genice. De asemenea, se conturează mereu mai clar presupunerea că numeroase tulburări, mai mult sau mai puțin severe, care nu au încă nici o explicație plauzibilă, sînt și ele condiționate genetic.

Aceste cîteva date demonstrează că genetica va ocupa un loc major în medicină. Dar nu numai în medicină. A trebuit să apară citogenetica și biologia moleculară pentru a înțelege mecanismele atît de complicate ale evoluției, pentru a ajunge la concluzia, cu alte cuvinte, că evoluția nu poate fi descifrată decît la nivel cromozomal și genetic.

De genetică se leagă multe dintre speranțele lumii noastre: este neîndoielnic că prin intermediul ingineriei genetice vor putea fi corectate accidentele ereditare și va fi ameliorată structura genetică a speciei noastre, evident numai dacă se va considera că este necesar (Maximilian, 1978).

NATURA CHIMICĂ A MATERIALULUI GENETIC

Istoria acizilor nucleici a început în 1868 cînd Miescher a izolat o substanță cunoscută acum sub numele de acid deoxiribonucleic (ADN). Ulterior s-au făcut numeroase cercetări asupra proprietăților lui chimice. Semnificația lui biologică rămînea însă obscură. Abia în 1924 Feulgen și Rossenbeck au demonstrat că acidul deoxiribonucleic este localizat în cromozomi. Cu toate acestea, se credea că specificitatea genetică este asigurată de proteinele cromozomale.

La sfîrșitul aceluiași deceniu o serie de experiențe scoteau în evidență un fapt cu totul remarcabil, și anume că structura genetică a microorganismelor poate fi modificată, așa cum demonstrează experiențele care urmează.

Virulența pneumococului (*Diplococcus pneumoniae*), agentul patogen al pneumoniei la mamifere, este condiționată de prezența unei capsule compuse din polizaharide. Bacteriile capsulate au suprafața netedă, de aceea ele au fost numite S (de la *smooth* = neted) și sînt virulente. Bacteriile necapsulate formează colonii rugoase, fiind numite R (*rough* = aspru) și sînt avirulente. Ele sînt rezultatul unei mutații.

În 1928 Griffith a injectat șoarecilor bacterii R sau bacterii S ucise prin căldură. Toate animalele au supraviețuit acestui experiment. Dacă însă se injectau simultan cele două tipuri de bacterii, șoarecii mureau. Din animalele moarte au fost extrase bacterii vii de tip S. Se poate deduce că bacteriile S distruse conțin un factor capabil să transforme bacteriile R în bacterii S.

Transformarea este specifică.

Există mai multe sușe de pneumococ: SI, SII, SIII... Fiecare sușă se deosebește de celelalte prin natura capsulei. Dacă, de pildă, odată cu bacteriile R se injectează bacterii

SIII distruse prin încălzire, din şoarecii morţi de pneumonie pot fi izolate bacterii de tip serologic SIII.

Mai tîrziu s-a văzut că acelaşi fenomen are loc şi *in vivo* şi că din bacteriile S se poate extrage factorul transformant S. În prezenţa lui bacteriile R devin bacterii S.

Natura principiului transformant a fost descoperită de O. Avery şi col. (1944). Ei au reuşit să demonstreze că factorul transformant este acidul deoxiribonucleic. Ulterior s-a constatat că pot fi transferate şi alte caractere. De pildă, dacă se extrage ADN dintr-o suşă rezistentă la streptomicină şi se introduce într-o colonie de pneumococ sensibil la acelaşi antibiotic, o parte dintre bacterii devin rezistente. Procentul este influenţat de cantitatea de ADN introdusă în cultură.

Transformarea este permanentă şi ereditară.

Alte experienţe au confirmat rolul genetic al ADN-ului. Astfel, Hershey şi Chase (1952) au remarcat că bacteriofagul care infestează o bacterie injectează în organismul gazdă numai ADN-ul său. Curînd după aceea ADN-ul viral asigură sinteza propriilor sale proteine, în timp ce ADN-ul bacterian îşi încetează activitatea.

Cercetările ultimului deceniu, care au culminat cu sinteza genelor şi cu manipularea moleculelor de ADN recombinant, au demonstrat din nou că ADN-ul conţine informaţia genetică.

Acizii nucleici asigură astfel legătura dintre generaţii.

ADN-ul este constituit din 4 baze (două pirimidinice şi două purinice, citozina şi timina şi, respectiv, adenina şi guanina) şi un zahar (deoxiriboza). Din combinarea unei baze cu un zahar rezultă un nucleozid — citidina, timidina, adenozina şi guanozina, iar prin esterificarea funcţiei alcool a ribozei de către acidul fosforic se formează un nucleotid. ADN-ul este astfel un polinucleotid (fig. 1).

Cu puţine excepţii, secvenţa bazelor este necunoscută. Se ştie că:

$$\frac{A}{T}=\frac{G}{C}=\frac{A+G}{T+C}=1.$$

Aceasta este regula lui Chargaff.

Raportul $\frac{A}{G}+\frac{T}{C}$ variază însă de la o specie la alta în limite foarte largi, între 0,4 şi 2,6.

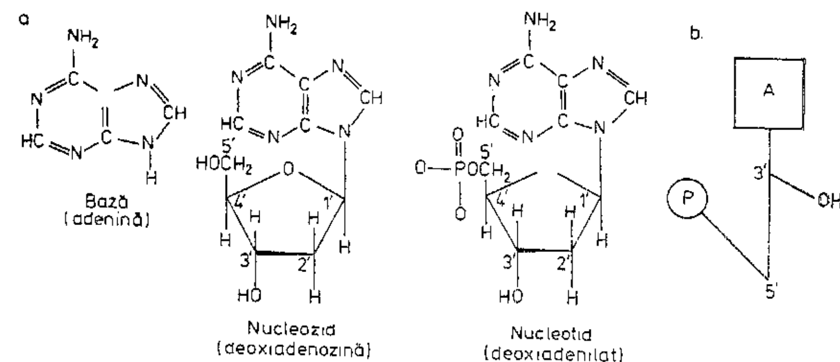


Fig. 1. *a*. bază (adenină); nucleozid (deoxiadenozină) şi nucleotid (deoxiadenilat). *b*. nucleotidul poate fi reprezentat astfel: linia verticală reprezintă zaharul care poartă baza (A) ca un lanţ lateral şi este legat prin fosfat (P) la carbonul său 5′ de carbonul 3′ al nucleotidului adiacent.

Din aceste date rezultă că există o cantitate egală de adenină şi timină, de guanină şi citozină.

Cantitatea de ADN dintr-o celulă este constantă pentru fiecare specie. Gameţii au doar jumătate din cantitatea de ADN a celulelor somatice. Este firesc să fie aşa, deoarece există o relaţie directă între cantitatea de ADN şi numărul cromozomilor. O dovadă suplimentară a adus-o observaţia că speciile triploide au mai mult ADN decît cele diploide.

ADN-ul este localizat în special în nucleu, fiind elementul constitutiv major al cromozomilor. În nucleul celulelor animale se găsesc $4{,}8\cdot10^{-12}$ picograme de ADN.

Numărul total de nucleotide a fost stabilit doar la cîteva virusuri. Astfel, ADN-ul bacteriofagului Φ X 174 este constituit din 5 500 deoxiribonucleotide. La *E. coli* ar exista $35\cdot10^5$ perechi de nucleotide, iar în ADN-ul spermatozoidului uman, 10^9 nucleotide.

Pornind de la concluziile cercetărilor lui Chargaff şi de la informaţiile oferite de spectroscopia cu raze X, Watson şi Crick au descoperit structura secundară a ADN-ului. Molecula de ADN are forma unei duble spirale, constituită din două lanţuri polinucleotidice, antiparalele (fig. 2). Barele lanţului sînt formate din deoxiriboză esterificată de fosfaţi. Treptele sînt formate din cele două baze unite prin legături de hidrogen, două între A şi T şi trei între G şi C. Bazele

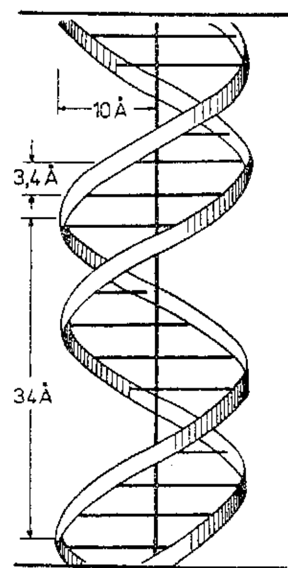


Fig. 2. Structura secundară a moleculei de ADN.

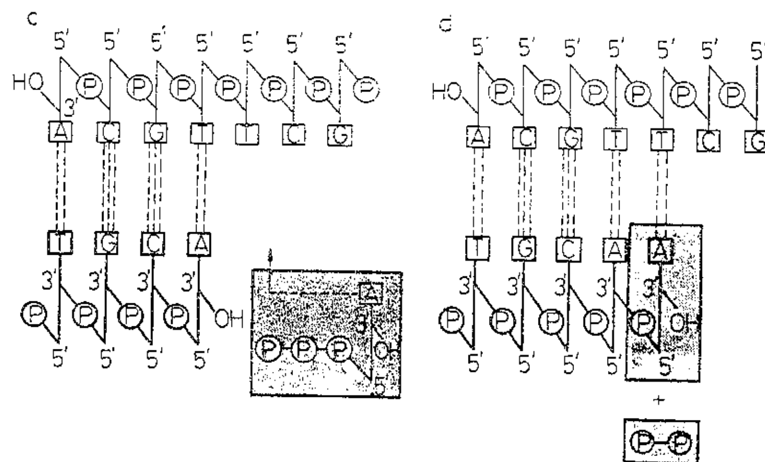
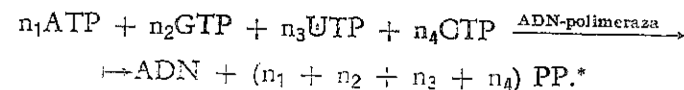


Fig. 3. În molecula dublă de ADN, A se împerechează cu T și G cu C. Liniile întrerupte reprezintă legăturile de hidrogen. Un lanț complementar, cel de jos, este sintetizat de-a lungul unei matrițe — lanțul de sus — de către ADN-polimeraza (după Fiddes, 1977).

se găsesc la o distanță de 3,4 Å unele de altele; în fiecare tur al spiralei se găsesc 10 baze (fig. 3).

Dubla elice a moleculei de ADN explică autoreplicarea. Se poate admite că unul dintre filamente permite, pe baza împerecherii specifice a bazelor, reconstituirea celuilalt filament (este un mecanism semiconservativ, care va fi discutat mai tîrziu). În acest fel se păstrează secvența perechilor de baze și implicit integritatea informației genetice.

Sinteza ADN-ului a fost realizată *in vitro*. Kornberg (1957) a izolat din *E. coli* enzima specifică ce sintetizează ADN-ul: ADN-polimeraza sau replicaza. În prezența ADN-ului și a unui amestec format din cele patru nucleotide are loc polimerizarea:



$$n_1ATP + n_2GTP + n_3UTP + n_4CTP \xrightarrow{\text{ADN-polimeraza}}$$
$$\rightarrow ADN + (n_1 + n_2 + n_3 + n_4)\ PP.*$$

În produsul sintetizat se păstrează raportul caracteristic între baze $\frac{A+G}{C+T} = 1$, precum și raportul $\frac{A+T}{G+C}$ al ADN-ului inițial. Sinteza reclamă prezența unui singur filament ADN.

TRANSCRIPȚIA

ADN-ul este matrița pe care are loc sinteza a trei tipuri de acizi ribonucleici: ARNm (ARN mesager); ARNt (ARN de transport) și ARNr (ARN ribozomal). Sinteza se desfășoară pe unul dintre cele două filamente și cere participarea unor enzime specifice.

Fiecare tip de ARN este transcris de pe gene structurale prezente odată sau de două-trei ori în fiecare genom. O excepție importantă o constituie ARNm pentru histone, transcris de pe gene prezente de sute de ori în fiecare genom.

Transcripția este asigurată de ARN-polimeraza-ADN-dependentă de-a lungul interfazei și încetează doar în mitoză. Dar în timp ce procariotele au un singur tip de ARN-polimerază, eucariotele au forme multiple. Toate ARN

* ATP = acid adenozin trifosforic; GTP = guanozină trifosfat; UTP = uridină trifosfat; CTP = citozină trifosfat; PP = pirofosfat.

-polimerazele descoperite la eucariote sînt constituite din mai multe lanțuri polipeptidice de dimensiuni variate.

Transcripția se desfășoară în patru etape:

1. Fixarea enzimei de promotor, etapă ce reclamă participarea unui factor proteic specific, factorul sigma, subunitate a ARN-polimerazei. Între promotor și polimerază se formează un complex binar, numit promotor închis. Enzima pătrunde în interiorul elicei formîndu-se complexul promotor deschis;
2. Inițierea transcripției, proces complex care are drept rezultat formarea primelor nucleotide;
3. Alungirea lanțului de ARNm;
4. Oprirea sintezei și eliberarea lanțului, procese care cer intervenția altui factor specific, proteina rho. Transcripția se oprește în momentul în care polimeraza ajunge la sfîrșitul genei unde se găsește o secvență de terminare, formată, la procariote dintr-o succesiune de 4—12 baze GC urmată de o succesiune de baze AT.

CODUL GENETIC

Una dintre problemele fundamentale ale geneticii a fost descifrarea codului genetic, adică a secvenței de baze care specifică un aminoacid dat. Trebuia să se stabilească cum poate fi tradus codul inclus în ADN într-o succesiune de aminoacizi, pornind de la premisa că ADN-ul sau ARN-ul sînt formați din patru unități — A, G, C și T în ADN și A, G, C și U în ARN, iar proteinele sînt constituite din 20 de tipuri de aminoacizi.

În 1954 Gamow a sugerat, și presupunerea sa a fost confirmată, că codul genetic este constituit din ordonarea variată a trei baze (triplet sau codon). Cu alte cuvinte, codonul este unitatea de codificare. Era, dealtminteri, singura posibilitate. Nu poate exista un cod format dintr-o singură bază, deoarece ar fi codificați doar patru aminoacizi; nici un cod cu două litere, deoarece și în acest caz numărul de aminoacizi codificați ($4^2 = 16$) ar fi mai mic decît numărul total de aminoacizi. În ipoteza lui Gamow se pot codifica însă $4^3 = 64$ de aminoacizi. Există deci 64 de codoni. Excesul de codoni nu este inutil, deoarece mai mulți codoni specifică același aminoacid, iar trei dintre ei au un rol special, și anume marchează terminarea sintezei lanțului polipeptidic.

Ipoteza lui Gamow a fost verificată experimental. Codul genetic a fost descifrat deosebit de repede.

Tabelul 1

Codul genetic

Baza terminală 5'OH	U	Baza mijlocie C	A	G	Baza terminală 3'OH
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	Term*	Term*	A
	Leu	Ser	Term*	Try	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Glu NH_2	Arg	A
	Leu	Pro	Glu NH_2	Arg	G
A	Ile	Thr	Asp NH_2	Ser	U
	Ile	Thr	Asp NH_2	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met**	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

* = codon de terminare a lanțului.
** = poate fi și codon de inițiere cînd se folosește un ARNt specific.

Semnificația abrevierilor: Gly = glicină; ALA = alanină; Val = valină; Leu = leucină; Ile = izoleucină; Ser = serină; Thr = treonină; Asp = acid aspartic; Asp NH_2 = asparagină; Glu = acid glutamic; Glu NH_2 = glutamină; Lys = lizină; Arg = arginină; His = histidină; Phe = fenilalanină; Tyr = tirozină; Try = triptofan; Cys = cisteină; Met = metionină; Pro = prolină.

Dacă există un raport între succesiunea nucleotidelor și cea a aminoacizilor atunci o substituție a bazelor va antrena o modificare corespunzătoare a structurii proteinei sintetizate. Conform așteptărilor, delețiile sau inserțiile induse experimental în genele bacteriofagilor alterează structura proteinei finale. Structura este restabilită dacă pierderea unui nucleotid este urmată de inserția altuia sau dacă se pierd ori se introduc trei nucleotide.

Codul genetic, prezentat în tabelul 1, are o serie de particularități:

— Este degenerat și ambiguu, adică există mai mulți codoni pentru același aminoacid: 6 pentru leucină, de pildă; există însă și aminoacizi codificați de un singur codon, de exemplu metionina. Degenerarea constituie o soluție remarcabilă a selecției naturale de a asigura supraviețuirea organismului. Dacă codul genetic nu ar fi degenerat, atunci o substituție de baze ar duce la formarea de codoni non-sens și sinteza proteinelor ar fi blocată. Or, înlocuirea poate să aibă consecințe minore dacă nu afectează situl activ al enzimei;

— Codul genetic nu este suprapus. Cu alte cuvinte, fiecare triplet este independent. Dacă una sau două litere ale codului ar face parte din doi codoni atunci o substituire ar duce la modificarea a trei aminoacizi;

— Codul genetic are punctuații. Dintre cele 64 de triplete, trei (UAG, UAA și UGA) sînt triplete non-sens — ele anunță sfîrșitul sintezei lanțului polipeptidic;

— Codul genetic este universal: același codon specifică același aminoacid la toate speciile. De exemplu, ovocitul batracianului *Xenopus laevis* sintetizează hemoglobină de iepure dacă i se administrează ARNm specific.

Concluzia a fost acceptată ca atare pînă recent. Studiul genomului mitocondriilor a demonstrat însă că există cel puțin trei diferențe între codul genetic descris anterior și codul genetic folosit de aceste organite. Astfel CUA, care este codonul pentru leucină, în mitocondrie codifică treonina; AUA, care obișnuit codifică izoleucina, aici codifică metionina, iar UGA, normal unul dintre cele trei semnale stop, codifică triptofanul.

Explicația acestor variante este încă necunoscută.

— Codul genetic este specific. Specificitatea rezidă în succesiunea celor trei baze; codonul UUG specifică leucina; codonul UGU specifică cisteina, iar codonul GUU specifică valina. Se pare că deseori sînt specifice numai primele două baze; ultima este necesară, dar nu și specifică.

— Se presupune că începutul sintezei nu este condiționat de un triplet, ci de un cvadruplet (AUGA sau AUGG), această formație ar specifica metionina inițială cu care începe întotdeauna translația.

— Secvența de baze este citită dintr-un anumit punct și se face într-un singur sens.

Descifrarea codului genetic a avut multiple consecințe:

— A demonstrat unitatea genetică a lumii vii. Este cert că toate organismele folosesc același sistem de conservare și de transmitere a informației genetice;

— A explicat mecanismul de apariție al unei mari clase de mutații: al mutațiilor genice;

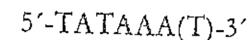
— A reliefat faptul că numeroase modificări ale bazelor ADN-ului nu au răsunet fenotipic, deoarece codul genetic este degenerat sau deoarece nu alterează structura și funcția proteinei finale.

STRUCTURA GENEI

Gena este un fragment de ADN sau ARN, în virusurile ARN, care poartă un mesaj specific. Ea este constituită din mai multe regiuni cu funcții distincte.

— La extremitatea 5′ se găsește promotorul. El este definit funcțional ca o secvență ADN care constituie punctul de pornire al ARN-polimerazei. Succesiunea nucleotidelor promotorului a fost stabilită la virusuri, la bacterii și la eucariote. La procariote este format din două situri: un sit de recunoaștere, situat cu aproximativ 35 de nucleotide mai sus de primul nucleotid de codare, și „cutia lui Pribnow“, o secvență separată doar prin 10 nucleotide de nucleotidul de inițiere al transcripției.

La eucariote în locul sitului de recunoaștere se găsește o secvență de 6—7 nucleotide, numită „cutia lui Hogness“, asemănătoare cu cutia lui Pribnow. Ea are următoarea formulă:


5′-TATAAA(T)-3′

Această secvență nu este situată în aceeași poziție la toate genele. Uneori este situată la aproximativ 130 de nucleotide de primul nucleotid de codare, alteori mai departe.

Așa cum s-a remarcat mai înainte, în această regiune se fixează ARN-polimerazele și inițiază transcripția. Procesul începe imediat la dreapta secvenței promotorului (fig. 4).

— Urmează secvența lider, secvență care codifică extremitatea 5′ a ARNm matur. Lungimea secvenței diferă de la un ARNm la altul: 18—175 de nucleotide în două tipuri de ARNm ale fagului ΦX 174. Rolul liderului este încă incert.

Se știe doar că cea mai mare parte a nucleotidelor nu sînt indispensabile sintezei proteinei.

— În anumiți operoni, în general în operonii represibili, despre care se va vorbi mai departe, există un element de

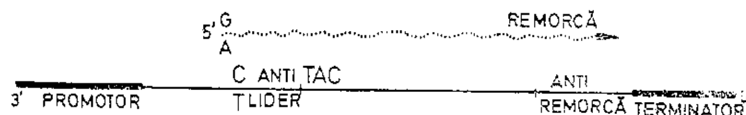


Fig. 4. Structura genei (după Goodenough, 1078).

control, numit atenuator. El este situat la sfîrșitul secvenței lider. Intervine în controlul transcripției. Odată inițiată, transcripția poate continua sau nu: se oprește la nivelul atenuatorului în funcție de necesitățile celulei. Dacă celula are o cantitate suficientă de produs final, atunci transcripția se oprește la nivelul atenuatorului.

— Secvența structurală — gena în accepția strictă a termenului. Deoarece translația începe cu o metionină, primul codon al genei structurale trebuie să fie TAC (AUG în ARNm).

— La virusurile și la eucariotele studiate pînă acum, genele de codare sînt separate prin secvențe de necodare, numite inserții sau introni. Secvențele de codare au primit numele de exoni. La eucariote intronii au fost descoperiți în gene diverse, ca cele care codifică ARN-ul ribozomal, globina, ovalbumina din albușul de ou, lizozimul, hormonul de creștere de la șobolan, insulina de șobolan, imunoglobulinele, hormonul de creștere uman. Se pare că scindarea genelor este un fenomen comun tuturor eucariotelor.

Geneza intronilor este nesigură. S-a sugerat că ar putea deriva din elemente de inserție prinse în genom în etapele timpurii ale evoluției. Nici rolul lor nu este cunoscut. S-a presupus că ar regla transcripția. Dar ipoteza este puțin probabilă, deoarece există și gene fără introni: genele pentru histone de la *Drosophila*. Este cert că o genă formată din introni și exoni are aceeași structură în toate celulele organismului, indiferent dacă gena este funcțională sau nu. De pildă, gena pentru ovalbumină include mai mulți introni și în celulele oviductului și în eritrocite.

— După codonul de terminare se găsesc aproximativ 30 de perechi de baze care par să reprezinte un semnal de recu-

noaștere pentru proteinele reglatorii. Nu se știe dacă sînt sau nu transcrise.

Aceasta pare să fie structura obișnuită a unei gene, așa cum este văzută acum. Foarte probabil în anii următori ea va suferi remanieri majore.

Conform datelor clasice ale geneticii, genele sînt imobile. Era o dogmă. A fost infirmată de descoperirea fragmentelor de inserție în ADN. Ele sînt constituite din 800—1 200 de nucleotide; rareori ajung la 2 000. Au fost numite IS1, IS2, IS3 și sînt situate în diferite puncte ale genomului bacterian. Secvențele de inserție IS1 încadrează genele care asigură rezistența la antibiotice — aceste gene sînt situate în plasmide. Porțiunea cuprinsă între secvențe se poate detașa și apoi migra în altă plasmidă sau în cromozomul bacterian, de unde ulterior se reinserează în plasmidă. Fragmentele de ADN care își pot schimba locul în genom au fost numite transpozoni.

Se presupune că transpozonii au facilitat schimbul de gene între organismele inferioare și ar favoriza rupturile cromozomale.

Migrează și genele eucariotelor (vezi imunogenetica). Nu se știe însă care sînt dimensiunile acestui fenomen.

NUMĂRUL GENELOR

Este cert că toate nucleele celulelor unui organism conțin aceeași cantitate de ADN. Cantitatea de ADN prezentă într-o celulă haploidă reprezintă valoarea C. Celulele diploide au astfel 2C. Cu destul de puține excepții, valoarea C crește paralel cu complexitatea organismului, de la 0,1 pg ADN în nucleul haploid al drosofilei la aproximativ 3 pg la cele mai multe mamifere. Aceste observații au dus la presupunerea că valoarea C ar putea constitui o premisă pentru calcularea numărului de gene al unei specii. Se pleacă de la ideea că o genă de dimensiuni mijlocii are 1000 de nucleotide și ca atare ea poate codifica o proteină formată din 333 de aminoacizi. Pe baza acestor calcule, mamiferele ar avea aproximativ 3 milioane de gene. Este însă puțin probabil să fie așa. De aceea s-a renunțat la aceste date și s-au căutat alte căi. Studiindu-se cinetica acizilor nucleici în culturi de celule umane, s-a conchis că omul ar avea cel puțin 36 000

de gene, mai exact de tipuri diferite de ARNm. Cercetarea cantității totale de ARN a dus la concluzii similare.

Mc Kusick (1977) presupunea însă că genomul uman ar conține aproximativ 450 000 de gene. Dintre ele numai 50 000 ar fi gene structurale. Celelalte ar fi gene reglatorii.

FUNCȚIA GENEI

La începutul acestui secol se admitea că o genă controlează apariția unui singur caracter: ipoteza o genă — un caracter.

Prima modificare a acestei ipoteze a fost generată de studiul pigmenților florilor. În 1925 Muriel Onslow a arătat că schimbarea naturii pigmenților este rezultatul unor mutații. Se contura atunci prima ipoteză modernă asupra funcției genei: o genă — un produs biochimic. Ipoteza nu explica însă modul de acțiune al genei.

Descifrarea bazelor biochimice ale caracterelor genetice cerea idei noi. Trebuia găsit un drum de a studia felul în care genele controlează reacțiile biochimice cunoscute. Primul pas, dealtminteri unul dintre cei mai fecunzi din istoria geneticii, a fost făcut de Beadle și Tatum. Între 1940 și 1945 ei au studiat din punct de vedere biochimic o ciupercă, *Neurospora crassa*. Au remarcat că tipul sălbatic-normal poate sintetiza toți aminoacizii esențiali activității vitale. Există însă numeroase mutante care au pierdut capacitatea de a mai sintetiza unul dintre acești aminoacizi. Mutantele nu se mai dezvoltă decît dacă în mediul de cultură se adaugă aminoacidul nesintetizabil. S-au descoperit, printre altele, mai multe mutante incapabile să sintetizeze arginina (arg). Lanțul biosintezei argininei este prezentat în graficul următor (fig. 5). Așa cum se remarcă din imaginea alăturată există trei lanțuri metabolice: un lanț care începe cu glutamat (ornitină, citrulină, arginino-succinat, arginină); un lanț care duce la sinteza carbamilfosfatului și un lanț care începe cu condensarea carbamilfosfatului cu ornitina. Aceste lanțuri sînt controlate de o serie de gene: arg A, arg C, arg G. Modificarea oricăreia dintre aceste gene are drept rezultat blocarea lanțului metabolic și acumularea unuia dintre precursorii unui pas metabolic. De pildă, în sușele arg E^- se acumulează ornitina, iar în sușele arg F^- se acumulează citrulina. Se poate conchide că prezența unei mutații genice

antrenează o deficiență enzimatică. Pornind de la aceste observații, Beadle și Tatum au formulat în 1941 teoria „o genă—o enzimă", teorie conform căreia o genă controlează sinteza unei singure enzime. Numeroase alte observații, prin-

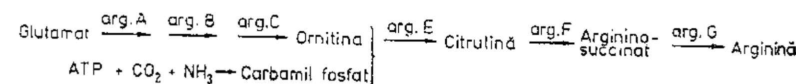


Fig. 5. Sinteza argininei.

tre care și observațiile asupra erorilor înnăscute de metabolism umane, confirmau această teorie.

Deoarece o enzimă poate fi constituită din două sau mai multe lanțuri polipeptidice, teoria a fost reformulată: o genă — un lanț polipeptidic.

Studiul imunoglobulinelor a extins această definiție. Imunoglobulinele sînt formate din două lanțuri grele și două lanțuri ușoare. Fiecare dintre lanțuri are o regiune constantă și o regiune variabilă (vezi mai departe, capitolul de imunogenetică). Regiunea constantă a lanțurilor ușoare este controlată de o singură genă. Regiunea variabilă, formată din 112 aminoacizi, este specificată de două gene: o genă care produce primii 97 de aminoacizi și o nouă genă, J, care controlează sinteza secvenței 98—112. Cele două regiuni, constantă și variabilă, sînt separate printr-o secvență de 1 250 de nucleotide netranscrise.

Deci conceptul o genă — un lanț polipeptidic a devenit trei gene — un lanț polipeptidic.

Foarte probabil o genă poartă o singură informație genetică. La eucariote este cert așa. În mod cu totul excepțional, același fragment ADN asigură sinteza a două proteine total diferite. Mai exact, o genă mai mică este inclusă într-o genă mai mare. În cursul transcripției trama de citire a genei mici este deplasată cu o poziție la dreapta tramei de citire a genei mari. Fenomenul, descoperit doar la virusuri, pare să fie o excepție, deoarece impune constrîngeri evolutive majore. O mutație într-o genă alterează structura a două proteine. Ca atare, cele două gene trebuie să evolueze paralel.

SINTEZA PROTEINELOR

Descifrarea mecanismului de biosinteză a proteinelor a constituit una dintre cele mai impresionante performanțe ale biologiei. S-a stabilit întreaga secvență de reacții care duc la sinteza proteinelor. Realizarea acestui proces implică prezența unei matrițe de ADN, a unui intermediar — ARNm și a unor structuri capabile să transforme mesajul genetic într-o secvență de aminoacizi. Ideea privind succesiunea de reacții ADN → ARN → proteine a primit numele de „dogma centrală a biologiei moleculare". Ea cunoaște însă și excepții. La virusurile ARN, sinteza ADN-ului are loc pe o matriță de ARN sub acțiunea unei enzime specifice — transcriptaza inversă. Este „contradogma biologiei moleculare".

Sinteza proteinelor este un proces extrem de exact care are drept rezultat formarea a aproximativ 5 milioane de proteine, atît cît are organismul uman. Ea implică participarea unei serii de factori. Vom începe cu descrierea tipurilor de acizi ribonucleici (ARN).

Există trei tipuri de asemenea acizi: ARN mesager (ARNm); ARN de transport (ARNt) și ARN ribozomal (ARNr). Sinteza lor are loc pe unul dintre cele două filamente de ADN și este asigurată de enzime speciale, ADN-dependent-polimerazele. Secvența bazelor ARN-ului este complementară secvenței de baze a ADN-ului.

ARNm este constituit dintr-o succesiune 3′—5′ de nucleotide. El transportă în citoplasmă mesajul genetic necesar sintezei proteinelor. Se deosebește de ADN prin faptul că are riboză în loc de deoxiriboză și uracil în loc de timină. Reprezintă 5% din totalul ARN-ului celular. Are mai multe particularități:

Succesiunea bazelor lui reflectă succesiunea bazelor ADN-ului. In acest fel asigură fidelitatea mesajului care urmează să fie „citit" în citoplasmă;

— Are o longevitate variabilă; foarte scurtă, de cîteva minute, la microorganisme și foarte lungă, de zeci de ore, la organismele superioare;

— Fiecare ARNm este transcris de gene prezente odată sau de cîteva ori în genom.

Din nucleu ARNm migrează sub formă de granule, prin porii membranei nucleare, în citoplasmă, unde se asociază cu ribozomii formînd polizomii.

La procariote transcripția și traducerea mesajului au loc aproape simultan. La eucariote situația este mult mai complexă. Se formează inițial un ARNm eterodispersat sau eterogen de dimensiuni mai mari decît ARNm matur. Acest ARNm, eterodispersat, este transcris în regiunile de codare și în cele de necodare ale genei. În nucleu, după transcripție, suferă mai multe modificări: sînt eliminate secvențele de necodare, se adaugă o secvență de poli-A (poliadenozină), formată din 40—200 de nucleotide, la extremitatea 3′. Această secvență stabilizează molecula de ARNm. Unindu-se cu proteine specifice împiedică acțiunea exonucleazelor. În vecinătatea ei se află o scurtă secvență prezentă la specii diferite, care pare să fie un sit de recunoaștere al enzimei implicate în adiționarea secvenței de poliadenozină.

La cealaltă extremă se găsește o secvență specifică formată din baze metilate, și anume o guanidină-7-metil, care joacă un rol important în inițierea sintezei proteinelor. O parte din ARNm va migra din nucleu în citoplasmă. Restul va fi degradat în nucleu (fig. 6).

ARN-ul ribozomal este unul dintre constituenții ribozomilor. S-au descris trei clase importante de ARNr: ARNr 28 S (unități Svedberg), format din 5 500 de nucleotide; ARNr, 18 S format din 2 500 de nucleotide, și ARNr 5 S, constituit din 120 de nucleotide. Mai există încă un tip care pare să fie eliberat din ARNr 28 S.

Inițial se formează o moleculă mai mare de ARNr 40 S din care rezultă ulterior tipurile 28 S și 18 S (fig. 7). Acest tip de ARN este sintetizat în nucleol. Tot în nucleol este înmagazinat ARNr nou-format. La mamifere genele care specifică ARNr 28 S și 18 S sînt situate pe brațele scurte ale acrocentricilor. Gena 5 S are o localizare distinctă. La om este situată pe cromozomul 1 și pe alți cromozomi. Se presupune că în complementul haploid uman ar exista cel puțin 2 000 de copii ale acestei gene.

Despre funcțiile acestui ARN se știe destul de puțin.

Cel de-al treilea tip de ARN este ARN-ul de transfer, constituit din 75—90 de nucleotide. O parte dintre bazele lui sînt modificate prin adăugarea unor grupe metil. Interesant că succesiunea bazelor este constantă în toate tipurile de ARNt studiate pînă acum, indiferent dacă aparțin virusurilor, bacteriilor, plantelor sau animalelor. S-a conchis că structura ARNt este la fel de universală ca și codul genetic.

5′ 3′ ARN Hn lung 3 000 - - 45 000 nucleotide

Adăugarea unei baze poli - A o dată

5′ 3′ 210 baze adăugate în secvența poli-A

Clivarea ARNm eliberat

5′ 3′

Secvențe ne-mesagere degradate în nucleu

ARNm transportat în citoplasmă

Membrană nucleară

5′ 3′ ARNm lung de la 3 000 baze conținînd 195 resturi poli-A

5′ 3′ ARNm translat de către ribozomi

Fig. 6. Maturarea ARNm. Precursorul ARNm este ARNHn (ARN eterodispersat sau eterogen). La extremitatea 3′ o enzimă specială adaugă o secvență de poli A. Molecula de ARNHn este degradată în nucleu. Fragmentele de ARNHn derivate din regiunea 5′ sînt degradate în nucleotide. Molecula ARNm-poli A este apoi transportată în citoplasmă (după Lewin, 1977).

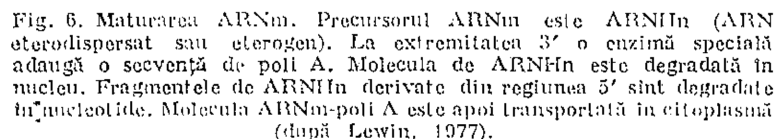


Fig. 7. Structura și transcripția genelor ARNr la *Xenopus*. Fiecare genă este separată de gena următoare printr-o regiune netranscrisă — „spacer".

Ca și celelalte tipuri de ARN, transcriptul ARNt suferă o serie de modificări. Inițial se formează un ARNt care are o secvență lider la extremitatea 5′, două nucleotide suplimentare la extremitatea 3′, precum și o secvență suplimentară de 14 nucleotide, două nucleotide metilate și un acid pseudouridilic. Din această moleculă — prin secționări, prin suplimentarea unor nucleotide și unirea extremităților libere — se formează ARNt funcțional, este eliminată secvența lider și secvența 3′ și se adaugă tripletul CCA.

Sinteza acestui tip de ARN este specificată de gene particulare. La eucariote există cel puțin 40—60 de gene, fiecare prezentă în mai multe exemplare, uneori cîteva sute în fiecare genom.

ARNt funcțional are forma unei trefle. La o extremitate se găsește secvența CCA care fixează aminoacidul specific iar la extremitatea uneia dintre bucle există un triplet complementar tripletului aminoacidului, numit anticodon (fig. 8).

ARNt are trei funcții:

1) Recunoaște o secvență de trei nucleotide dintr-o moleculă de ARNm.

Anticodonul se unește cu codonul specific prin legături de hidrogen. În momentul combinării, nucleotidele codonului și ale anticodonului au polaritate opusă (extremitatea 3′ a unei secvențe corespunde cu extremitatea 5′ a celeilalte secvențe). Anticodonul prezintă o particularitate importantă: nucleotidul de la extremitatea 5′ are un grad mai mare de libertate sterică decît celelalte două nucleotide, de aceea se numește nucleotid oscilant. Cu alte cuvinte, el poate interacționa prin legături de hidrogen cu cel de-al treilea nucleotid al codonului, legături imposibile în alte poziții ale anticodonului.

În poziția oscilantă se găsesc adesea nucleotide modificate — imina care rezultă prin deaminarea adeninei.

Citirea are astfel întotdeauna același sens: primul nucleotid al anticodonului citește cel de-al treilea nucleotid al codonului iar cel de-al treilea nucleotid al anticodonului citește primul nucleotid al codonului. Conform regulii lui Watson și Crick, A se împerechează cu U și G cu C. Citirea celui de-al treilea nucleotid implică o libertate mai mare, dar totuși limitată. Restricțiile au fost conturate de Crick (1966) (tabelul 2).

Așa cum se remarcă, G recunoaște C, pe principiul împerecherii bazelor și U prin oscilare, dar nu recunoaște A și G.

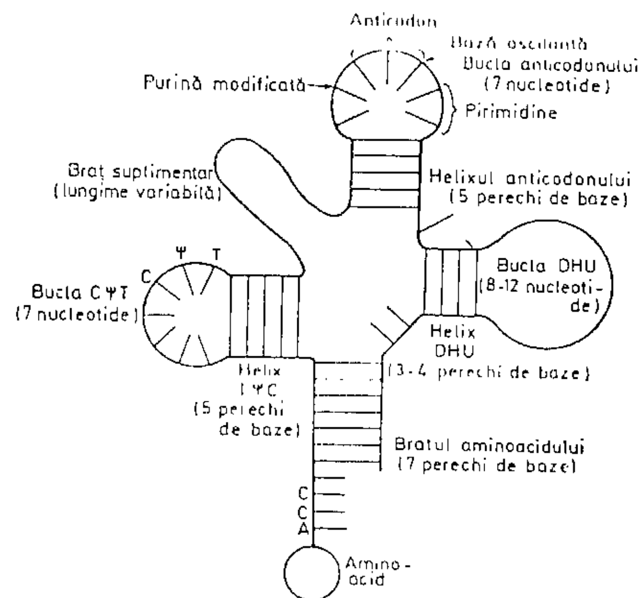


Fig. 8. Structura ARN-ului de transfer (după Engelman şi Moore, 1976).

Tabelul 2

Regulile oscilării

Poziția celui de-al treilea codon			
Nucleotid oscilant	Perechi de baze Watson-Crick	Perechi de baze oscilante	Interacțiuni imposibile prin regulile oscilării
U	A	G	U, C
C	G	—	U, C, A
I	C	U, A	G
G	C	U	A, G

2) Traduce semnificația secvenței de nucleotide într-un aminoacid;

3) Fixează locul aminoacidului în lanțul polipeptidic în formare.

Deci ARNt este un intermediar între limbajul acizilor nucleici și limbajul aminoacizilor.

Deși există numai 20 de aminoacizi, în celulele eucariotelor s-au descoperit 56 de tipuri distincte de ARNt. Se pare astfel că există o relație între numărul de ARNt și numărul codonilor și nu între numărul de ARNt și numărul aminoacizilor. Oricum, există adesea mai mult decît un singur tip de ARNt pentru un aminoacid dat. De pildă, *Escherichia coli* are două tipuri de ARNt pentru tirozină, fiecare fiind specificat de o genă proprie. Aceste forme de ARNt se numesc izoacceptori.

Sinteza proteinelor are loc în ribozomi, mici particule citoplasmatice constituite din ARN ribozomal și proteine, prezente și la eucariote și la procariote. Fiecare ribozom este format din două subunități, una mai mare și una mai mică. La procariote unitatea mare (50 S) conține două tipuri de ARNr (23 S și 5 S) iar subunitatea mică (30 S) conține ARNr 16 S. La eucariote ribozomii conțin ARNr cu greutate moleculară mai mare. Subunitatea mare include două tipuri de ARNr: ARNr 28 S și ARNr 5 S, iar subunitatea mică un ARNr 18 S.

Particulele 50 S sînt formate din 34 de proteine numite L iar particulele 30 S din 21 de proteine numite S. Majoritatea lor au un caracter bazic — sînt bogate în arginină-lizină. Proteinele ribozomale par să aibă funcții multiple. Unele — S_{21} și S_{26} — intervin în inițierea sintezei; altele — S_4, S_7, S_8, S_{16} și S_{17} — în asamblarea ribozomilor.

Datorită conținutului în ARNr, dar și altor factori, ribozomii eucariotelor sînt mai mari decît cei ai procariotelor. Primii sedimentează mai repede în sucroză. Ei sînt numiți ribozomi 80 S iar cei ai procariotelor, 70 S.

Proteina finală trebuie să reflecte succesiunea codonilor din ADN și din ARNm. Se poate deci deduce că succesiunea codonilor impunețsuccesiunea aminoacizilor.

Sinteza proteinei începe cu aminoacidul N terminal și se termină cu aminoacidul C terminal.

Sinteza proteinelor se desfășoară de-a lungul unor etape bine definite: activarea aminoacizilor; inițierea sintezei lanțului polipeptidic; formarea lanțului polipeptidic; terminarea sintezei și eliberarea lanțului polipeptidic din ribozomi.

Sinteza proteinelor presupune atașarea unui aminoacid de o moleculă particulară de ARNt. Reacția este catalizată de o enzimă specifică — aminoacil-ARNt-sintetaza. Există sintetaze specifice pentru fiecare dintre cei 20 de aminoacizi. De exemplu, leucil-ARNt-sintetaza se leagă selectiv de leucină și de ARNt pentru leucină. Se formează astfel aminoacizi activați sau aminoacil-ARNt. Aminoacizii activați sînt transportați apoi spre ribozomi. ,

Sinteza propriu-zisă începe cu formarea unui complex de inițiere. El este constituit din subunitatea ribozomală mică, un f-met-ARNt (N-formil-metionină-ARNt); grupul α-NH_2 al metioninei inițiale are un grup formil $-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-H-$ (acest grup nu este prezent la eucariote), o moleculă de ARNm și factori de inițiere. f-met-ARNt recunoaște unul dintre cei doi codoni de inițiere din ARNm — AUG sau GUG. Acest complex se unește cu subunitatea ribozomală mare și formează ribozomul funcțional 80 S la eucariote și 70 S la procariote.

Deci inițierea începe întotdeauna cu codonul metioninei. Procesul pare să fie similar la procariote și la eucariote cu diferența că aminoacilul inițiator nu este formilat la eucariote.

ARNm se asociază, la rîndul lui, cu ribozomii și aceștia se mișcă de-a lungul matriței într-o ordine precisă, de la extremitatea 5′ spre 3′, prima fiind și cea dintîi sintetizată (fig. 9).

Subunitatea mare a ribozomului are două situri adiacente: un sit A (aminoacil) și un sit P (peptidil). Sinteza începe cu ocuparea sitului P de către f-met-ARNt. Legarea este mediată la procariote de GTP. Imediat situl A este ocu-

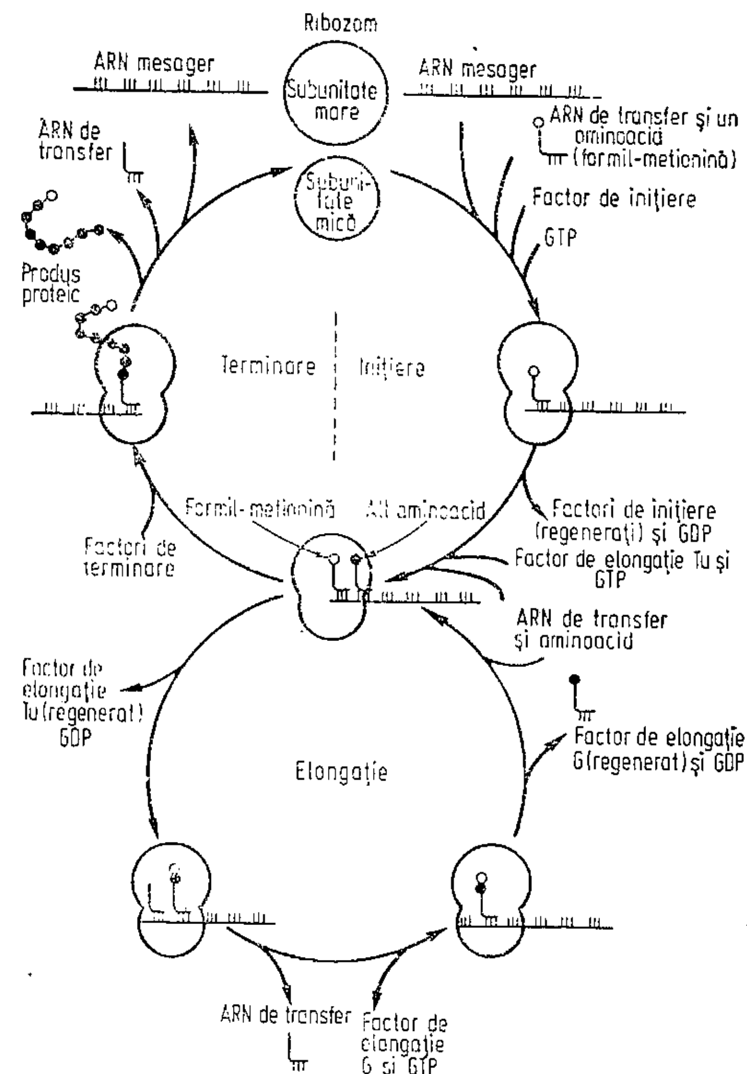


Fig. 9. Translația (după Engelman și Moore, 1976).

pat de ARNt corespunzător codonului din lanţul de ARNm. ARNt leagă aminoacidul de situl A şi în acelaşi timp se leagă de codonul ARNm. Legarea este mediată la procariote de doi factori de elongaţie, EF-Ts şi EF-Tu, în prezenţa GTP. Apoi se formează prima legătură peptidică între cei doi aminoacizi. Reacţia, denumită reacţia peptidil-transferază, este mediată de o enzimă legată de subunitatea mare a ribozomului — peptidil-transferaza.

În etapa următoare are loc o dublă reacţie: ARNt cu aminoacidul specific se mută din situl aminoacil în situl peptidil dislocînd f-met-ARNt liber. Reacţia implică prezenţa factorului de elongaţie EF-G. A doua reacţie, simultană cu prima, este mişcarea întregului ribozom de-a lungul matriţei de ARNm. Situl A rămîne liber şi va fi ocupat de un nou aminoacil-ARNt. Ciclul se repetă: reacţie peptidil-transferază, translocaţie în situl peptidil... etc., pînă la terminarea sintezei lanţului polipeptidic.

Terminarea sintezei este anunţată de trei codoni specifici: UAA, UAG şi UGA. Urmează ultima etapă, eliberarea lanţului. Ea este determinată de factori particulari, factorii de eliberare: RF-1 care recunoaşte codonii UAA sau UAG şi RF-2 care recunoaşte codonii UAA sau UGA. ARNt şi lanţul polipeptidic sînt eliberaţi din ribozom, iar ribozomul se disociază în cele două subunităţi, libere să formeze un nou complex de iniţiere.

ARNm constituie doar 1—2% din totalul ARN-ului celular. Cu toate acestea, el asigură sinteza unei cantităţi mari de proteine. Explicaţia este simplă: molecula de ARNm este tradusă simultan de mai mulţi ribozomi; totalitatea ribozomilor legaţi de un filament de ARNm formează un poliribozom. Astfel sînt sintetizate paralel mai multe lanţuri de polipeptide. Lungimea lor este inegală, fiind direct proporţională cu lungimea matriţei citite. În general, există un ribozom la fiecare 80 de nucleotide de ARNm.

Procesul de alungire a lanţului este rapid. Ribozomii bacteriilor reuşesc să sintetizeze un lanţ format din 200 de aminoacizi într-o secundă. La mamifere procesul este de 20 de ori mai lent.

CONTROLUL EXPRESIEI GENELOR

Dezvoltarea individuală nu ar fi posibilă dacă genele nu ar fi supuse unui permanent control, cu alte cuvinte dacă

genele nu ar fi activate şi reprimate specific. Controlul trebuie să fie riguros. Evident, el nu poate fi decît genetic.

Cele mai multe dintre informaţiile de care dispune genetica au fost furnizate de microorganisme. Printre ele un loc privilegiat îl ocupă *Escherichia coli*, component normal al florei intestinale. În condiţii obişnuite de laborator, *E. coli* creşte într-un mediu simplu care conţine glucoză sau lactoză. Ea foloseşte preferenţial glucoza. Dacă aceasta este singura sursă de zahăr bacteria nu mai sintetizează nici una dintre enzimele implicate în metabolismul lactozei. Dacă în mediu se adaugă lactoză în locul glucozei *E. coli* produce enzimele necesare metabolizării ei. Bacteria foloseşte astfel numai genele cerute de mediul intracelular.

Trebuie să existe gene care poartă informaţia genetică necesară sintezei unui lanţ polipeptidic şi gene care controlează expresia primului grup de gene. Genele care asigură sinteza directă a proteinelor se numesc gene structurale. Genele care activează sau care reprimă activitatea genelor structurale se numesc gene reglatorii. Genele implicate în sinteza unui lanţ polipeptidic sau într-un proces metabolic pot fi situate una lîngă alta sau pot fi situate în regiuni cromozomale diferite.

Genele structurale sînt legate de o genă de control numită operator. Operatorul are un rol important în expresia genelor structurale asociate. Ansamblul gene structurale-operator a primit numele de operon. La rîndul lui, operonul interacţionează cu un nou tip de genă de control — gena reglatoare, care poate fi adiacentă operonului sau poate fi situată mai departe în ADN. Ultima genă produce o proteină difuzabilă — represor — care se combină cu operatorul.

La bacterii, un operon este constituit frecvent din mai multe gene implicate în acelaşi proces metabolic. Operonul galactoză (gal) de la *E. coli* este format din trei gene care controlează sinteza a trei enzime ce asigură degradarea galactozei în glucozo-1-fosfat şi UDP-glucoză (uridin-fosfoglucoză) (fig. 10).

Operonul lactoză, la aceeaşi bacterie, este format din trei gene structurale, *lac Z*, *lac Y* şi *lac A*, numite în mod obişnuit *z*, *y* şi *a*. Gena z specifică un lanţ polipeptidic particular. Patru asemenea lanţuri formează β-galactozidaza, enzimă care catalizează hidroliza lactozei în galactoză şi glucoză. Gena y sintetizează o moleculă specifică, proteina M sau galactozid-permeaza, prezentă în membrana celulară; en-

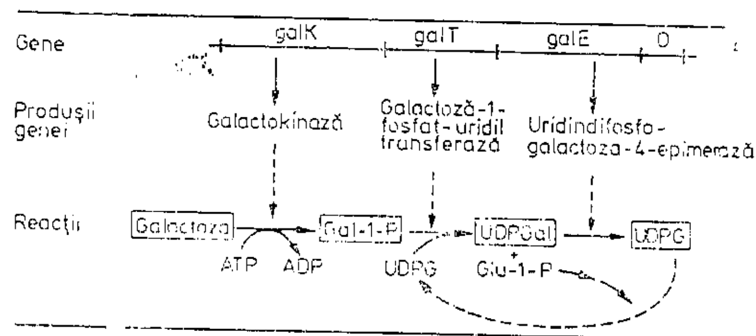


Fig. 10. Operonul galactoză (gal) la *E. coli*. O = operator; gal-1-P = galactoză-1-fosfat; UDPG = uridin difosfoglucoză; UDP gal = uridin difosfogalactoză; Glu-1-P = glucozo-1-fosfat (după Adhya şi Shapiro, 1969).

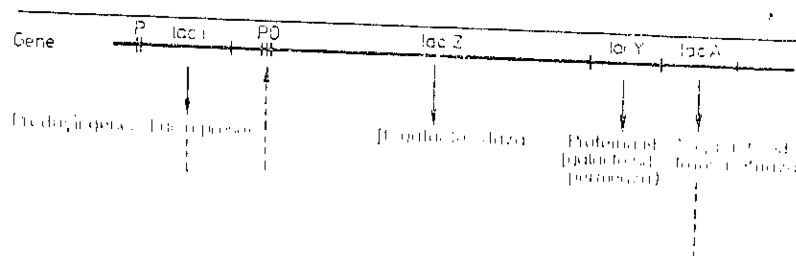


Fig. 11. Operonul lactoză (lac) la *E. coli*. P = promotor; O = operator (după Goodenough, 1978).

zima intervine în captarea lactozei din mediul extracelular (fig. 11). Gena produce tiogalactozid-transacetilaza, o enzimă cu funcţie necunoscută încă *in vitro*, dar care transferă grupul acetil de la acetil-coenzima A la izopropil-D-tiogalactozid.

A fost determinată întreaga secvenţă de nucleotide a operonului şi a fost elucidată structura moleculei reglatoare.

REGLAREA OPERONULUI LACTOZĂ

Operonul lactoză se găseşte sub un dublu control, negativ şi pozitiv. În prima ipoteză gena reglatoare se găseşte în afara operonului. Această genă, numită i, produce un represor — represorul lac — care se uneşte cu operatorul lac.

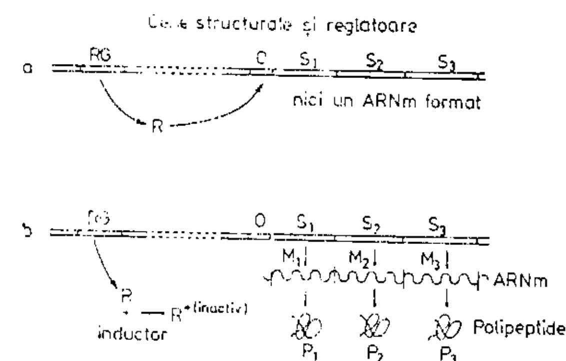


Fig. 12. Reglarea sintezei proteinelor. Modelul Jacob-Monod.

Operatorul este blocat şi transcripţia încetează. În cazul în care în celulă apare lactoză sau un analog al ei, transcripţia reîncepe, deoarece şi lactoza şi analogul ei se unesc cu represorul şi astfel eliberează operatorul (lactoza acţionează ca efector sau inductor). ARN polimeraza se leagă de situl de iniţiere al transcripţiei şi celula produce cele trei enzime necesare metabolizării lactozei. Cînd lactoza a fost metabolizată, represorul se combină din nou cu operatorul şi transcripţia încetează. Operonul funcţionează sau nu în raport cu necesităţile celulei (fig. 12).

Controlul pozitiv are drept rezultat creşterea cantităţii de produs final. Este determinat de o moleculă proteică numită CAP (*catabolite activator protein*) sau CRP (*cyclic AMP receptor protein*), specificată de o genă reglatorie crp care nu este contiguă cu operonul lactoză. Proteina CAP se leagă de o secvenţă de nucleotide din imediata apropiere a promotorului lac şi stimulează transcripţia. Probabil favorizează legarea ARN-polimerazei de promotor. Procesul este condiţionat de nivelul AMP-ului ciclic, un mic nucleotid. Atîta vreme cît nivelul AMP-ului ciclic este ridicat transcripţia este accentuată. Dacă însă în cultură se adaugă glucoză, nivelul AMP-ului ciclic scade şi implicit se reduce şi activitatea CAP. Glucoza inhibă astfel sinteza enzimelor implicate în metabolismul lactozei. Acest fenomen a fost numit efectul glucozei sau represiune catabolică.

Se presupune că apariţia acestui tip de control nu a fost întîmplătoare. El permite bacteriilor să folosească preferen-

ţial glucoza, cea mai eficientă sursă de carbon necesară creşterii.

Există, astfel, un dublu control al activităţii genice — un control pozitiv ori un control negativ. Pozitiv, atunci cînd produsul genei reglatorii iniţiază transcripţia, şi negativ, atunci cînd transcripţia este reprimată de produsul aceleiaşi gene. Primul are loc la nivelul promotorului, cel de-al doilea la nivelul operatorului.

Operonul arabinoză este supus însă şi unui control pozitiv şi unui control negativ. Acest operon este constituit din trei gene structurale: Ara A, ara B şi ara D, care codifică trei enzime: arabinozo-izomeraza, ribulokinaza şi ribulo-5-fosfat-epimeraza. Ele convertesc arabinoza în xilulozo-5-fosfat. În afara acestor gene există un sit de control care asigură sinteza unei proteine specifice — P. În absenţa arabinozei proteina, într-o anumită conformaţie, acţionează ca represor, blocînd operatorul (control negativ). Arabinoza eliberează P1 din operator, îi schimbă conformaţia în P2. Sub această formă acţionează cu complexul CAP şi AMO ciclic şi se leagă de promotor (control pozitiv). O singură proteină îndeplineşte astfel două funcţii.

La alţi operoni se adaugă încă un element de control — atenuatorul, o secvenţă de nucleotide situată între operator şi prima genă a lanţului metabolic. Operonul triptofan, de pildă, este constituit din cinci gene care codifică cele cinci enzime implicate în convertirea corismatului în triptofan. Aminoacidul este degradat rapid, aşa încît bacteriile sînt obligate să răspundă prompt tuturor solicitărilor. Pentru atingerea acestui scop bacteriile au două mecanisme de reglare. Primul: triptofanul se uneşte cu represorul şi complexul se leagă de operator. Represorul singur este insuficient. Triptofanul este astfel un corepresor. Odată operatorul blocat, transcripţia încetează. Al doilea mecanism este complementar primului. Cînd produsul final este abundent, o parte dintre moleculele de ARN-polimerază se opresc la nivelul atenuatorului şi cad de pe matriţă. Pe măsură ce nivelul triptofanului diminuează se amplifică numărul moleculelor de ARN-polimerază care depăşesc atenuatorul şi transcriu toată informaţia genetică a operatorului. Cantitatea de triptofan creşte. Atenuarea este un proces complex mediat de ARNm. Înaintea codonului de iniţiere se găseşte o secvenţă particulară de nucleotide numită lider. O parte dintre nucleotidele lui sînt comune cu cele ale atenuatorului. Cînd triptofanul

se găseşte în cantităţi suficiente liderul este translat, dar ARNm se modifică anunţînd ARN-polimerazei că transcripţia trebuie oprită. Cînd nivelul aminoacidului scade conformaţia ARNm se schimbă în aşa fel, încît transcripţia continuă (la bacterii transcripţia şi translaţia sînt simultane).

Biosinteza enzimatică este frecvent controlată printr-un mecanism particular numit inhibiţie prin *feed-back*. Produsul final al lanţului metabolic inhibă activitatea uneia dintre enzimele implicate în etapele timpurii ale aceluiaşi proces chimic. Acest mecanism asigură sinteza unei rate constante de produs final.

În concluzie, la microorganisme există mai multe tipuri de operoni. Unii, lactoză (lac), galactoză (gal) sau arabinoză (ara), funcţionează în prezenţa efectorilor intracelulari — lactoză, galactoză sau arabinoză. Deoarece funcţionalitatea lor este condiţionată de prezenţa efectorilor (inductorilor) se numesc operoni inductibili.

O altă categorie de operoni, histidină (his), arginină (arg), funcţionează pînă în momentul în care efectorii, histidină şi arginină, ating un anumit prag. Atunci sinteza încetează. Aceşti operoni au fost numiţi represibili iar efectorii, corepresori. Deci un operon este inductibil dacă este activ în prezenţa inductorului şi represibil dacă este activ în absenţa corepresorului.

Cele două tipuri de operoni reflectă necesităţile diferite ale celulei. Operonii represibili trebuie să asigure enzimele necesare unor procese vitale, în timp ce operonii inductibili asigură producţia unor enzime care nu sînt indispensabile organismului. Ambele sînt fundamental similare: sînt formate din gene structurale, gene de control — promotorul şi operatorul —, gene reglatorii cu proteinele pe care le specifică şi efectorii care se leagă de proteinele reglatorii.

CONTROLUL ACTIVITĂŢII GENELOR LA EUCARIOTE

Modelele descrise mai înainte sînt valabile doar la procariote. La eucariote structura ADN-ului este mult mai complexă. De aceea s-au sugerat alte modele care ţin seama de secvenţele de ADN repetitiv, numeroase la organismele superioare, de ARN-ul eterogen.

În modelul imaginat de Georgiev (1969) gena este formată din două părţi: o zonă acceptor sau neinformativă şi

o zonă structurală sau informativă. Prima este constituită dintr-o genă promotor — genă de legare a ARN-polimerazei — și mai multe secvențe acceptor — a_1, a_2. Aceste secvențe leagă proteinele reglatoare r_1, r_2... Zona structurală este constituită din mai multe gene structurale, unitatea de transcripție fiind policistronul. Funcționalitatea lui depinde de prezența sau absența proteinelor reglatoare. Dacă secvențele acceptor sînt libere, are loc transcripția. Secvențele acceptor pot fi prezente în mai multe unități de transcripție și repetiția explică existența ADN-ului repetitiv.

Modelul lămurește și sinteza ARN-ului eterogen. La extremitățile 5′ și 3′ se găsesc secvențe neinformative care ulterior, după transcripție, sînt eliminate și degradate.

Britten și Davidson (1969) au propus un alt model (fig. 13). În linii mari, modelul lor seamănă cu modelul clasic al procariotelor. Genele structurale producătoare sînt sub

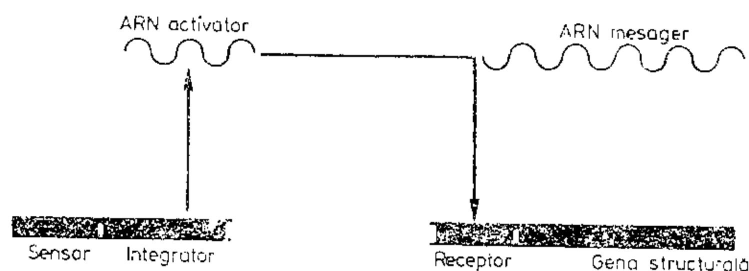


Fig. 13. Controlul genelor la eucariote. Modelul Britten-Davidson.

controlul unui receptor (operator) sensibil la acțiunea unor molecule activator specifice, probabil mici molecule de ARN transcrise de pe o altă genă: integrator (regulator). Ultima, capabilă să răspundă la stimuli exteriori, este sub controlul genelor „sensor". Inedit în această ipoteză este aranjarea în seturi a genelor receptoare și/sau integratoare (fig. 14). În urma unui stimul, genele sensor S_1, S_2, S_3 declanșează sinteza moleculelor activator care, la rîndul lor, formează un complex cu genele receptoare și genele producătoare și se începe transcripția. Acest model are meritul de a explica existența secvențelor repetitive de gene receptoare sau de gene integratoare.

Ulterior Davidson și Britten (1979) au prezentat un nou model care păstrează cîteva elemente din modelul anterior.

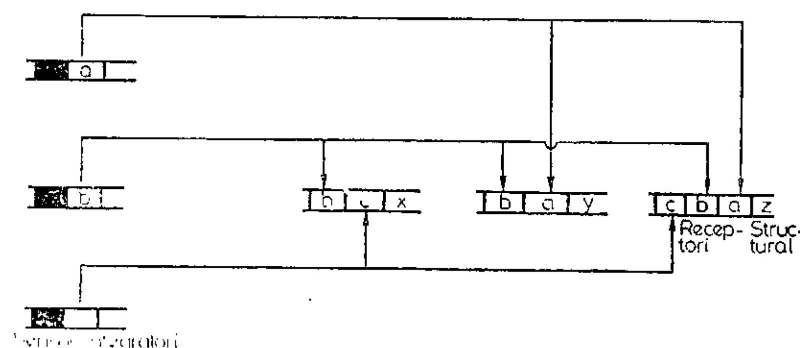


Fig. 14. Modelul Britten-Davidson. Redundanța receptorilor. Fiecare genă structurală poate fi activată de oricare dintre receptorii adiacenți. Activatorul a controlează genele structurale y, și z; activatorul b controlează genele structurale x și y, iar activatorul c controlează genele structurale x și z (după Lewin, 1977).

Modelul pleacă de la premisa că există trei clase de ARNm:

— clasa complexă constituită din ARNm prezent în celulă doar în cîteva còpii;

— clasa moderat prevalentă: în fiecare celulă există cîteva sute de còpii;

— clasa superprevalentă: este cea mai bine reprezentată. În fiecare celulă există 10^4 còpii. Apare în celulele diferențiate; rata de sinteză se modifică în timpul diferențierii.

Toate cele trei clase de ARNm sînt reglate. Conform acestui model, sînt transcrise toate genele. Oricum, pare să fie transcrisă cea mai mare parte a genelor. Presupunerea pornește de la observația că ARNm pentru ovalbumină a fost găsit în splină și în ficat ca ARN nuclear. Totuși numai o mică parte din acest ARN este reprezentat în ARNm. La *Drosophila*, în culturi de celule acest procent este de 4—6 iar în creierul de șoarece de 18. Se pare astfel că secvențele de gene structurale sînt transcrise în toate celulele. Și mai important este faptul că sînt transcrise specific și unele secvențe din genele nestructurale; dovadă este faptul că ARN-ul nuclear conține secvențe repetitive.

Regiunile ADN transcrise continuu au fost denumite unități de transcriere constitutivă, iar ARN-ul transcris — transcript constitutiv. Acest transcript este format dintr-o genă structurală cu secvențe de necodare și secvențe lider.

Regiunile genomului care conțin gene nestructurale transcrise au primit numele de unități de transcripție reglatorii integrative. ARN transcris pe aceste unități a fost numit transcript reglatoriu de integrare. El ar interveni în expresia genelor structurale.

Transcriptul constitutiv și transcriptul reglatoriu de integrare ar forma ARN-ul eterogen nuclear. Transcripția unităților de transcripție reglatorii integrative ar fi controlată de elemente sensor care răspund unor stimuli specifici.

Este însă cert că la eucariote controlul sintezei proteinelor are loc la mai multe nivele: la nivelul nucleului ARN-ul eterogen poate fi stabilizat și în acest fel cantitatea de ARNm crește. Reglarea se face apoi în momentul legării ARNm de proteine, în timpul transportului în citoplasmă sau în etapa finală, în cursul translației. Nu este exclus să existe și o reglare post-translațională, o degradare diferențiată a proteinelor.

ORGANIZAREA GENELOR

În cursul evoluției a avut loc o serie de evenimente care explică actuala distribuție cromozomală a genelor. Astfel, duplicația a asigurat organismului una sau mai multe copii ale unei gene ancestrale. Deși după apariție fiecare genă a evoluat independent, între ele există numeroase similitudini. Probabil foarte rar sînt chiar identice. În același timp evoluția a strîns în aceeași regiune cromozomală genele implicate într-un proces metabolic dat. La bacterii aceste gene formează un operon iar la eucariote un locus complex — un grup de gene care participă la realizarea unui caracter.

Firește, linkage-ul inițial a fost uneori rupt și genele au fost dispersate pe același cromozom sau pe cromozomi diferiți. Aceste gene alcătuiesc o familie de gene.

La organismele superioare s-au descoperit grupări de gene implicate în același proces fiziologic. Cel mai cunoscut exemplu este sistemul HLA. După toate probabilitățile, acest sistem s-a format prin duplicația unei gene inițiale.

Se pare că multe enzime și proteine neenzime sînt controlate de gene situate pe cromozomi diferiți. Un exemplu frecvent citat este cel al lactat dehidrogenazei (LDH), o enzimă care catalizează piruvatul în acid lactic. Enzima este formată din patru lanțuri polipeptidice A și/sau B. În funcție de natura celor patru lanțuri se formează cinci enzime:

— LDH1 este formată din patru lanțuri B;
— LDH2 este formată dintr-un lanț A și trei lanțuri B;
— LDH3 este formată din două lanțuri A și două lanțuri B;
— LDH4 este formată din trei lanțuri A și un lanț B;
— LDH5 este formată din patru lanțuri A.

Genele care specifică cele două tipuri de lanțuri sînt situate pe cromozomi diferiți: gena pentru lanțul A pe cromozomul 11 iar gena pentru lanțul B pe cromozomul 12.

Și hemoglobina este condiționată de gene situate pe cromozomi deosebiți: gena pentru lanțul α este situată pe cromozomul 16 iar genele pentru lanțurile non-alfa, pe cromozomul 11.

CONTROLUL GENELOR ȘI DIFERENȚIEREA CELULARĂ

Fecundația este un proces decisiv pentru întreaga evoluție individuală. În cursul acestui proces se unesc doi gameți cu potențialități genetice diferite care conferă oului și individului care derivă din el caracterul de unicat biologic. Indiferent de natura alelelor lui, el va urma drumul embriologic caracteristic speciei căreia îi aparține.

Imediat după fecundație zigotul se divide în celule din ce în ce mai mici. Volumul lor este însă egal cu volumul oului. Această masă constituită din celule identice continuă să se dividă. În faza următoare dimensiunile celulelor cresc și se conturează prima schiță de organizare a viitorului organism. Conform programului genetic, se dezvoltă țesuturile și organele, se definitivează embriogeneza. În organism fiecare celulă are o funcție bine definită, de pildă, eritrocitele sintetizează hemoglobină iar celulele cutanate, melanină.

Diferențierea celulară poate avea o dublă explicație: eliminarea genelor nefuncționale sau activarea specifică a unui număr oarecare de gene. Ultima ipoteză este corectă. Ea este susținută de o serie de fapte. Astfel, toate celulele au același număr de cromozomi și toate nucleele au aceeași cantitate de ADN (tabelul 3).

Spermatozoizii au numai jumătate din această cantitate (3,3 picograme).

Și mai concludente sînt cercetările lui Robert Briggs și Thomas King. Ei au transferat nuclee din celulele somatice

și formează un tub care va da naștere creierului și măduvei spinării. Tot din placa neurală derivă creasta neurală care va genera sistemul nervos periferic. Din această formațiune pornesc pe căi definite celule care vor constitui punctul de plecare al ganglionilor nervoși periferici, al melanocitelor și al celulelor lui Schwann.

Grefînd o porțiune din creasta neurală a himerei, Le Douarin a remarcat că o serie de grupe celulare din pancreas, din epiteliul gastrointestinal care sintetizează peptide identice cu cele din sistemul nervos central (substanța P, somatostatina și encefaline), din tiroidă (care produc calcitonină) și din medulosuprarenală au o origine comună; toate sînt rezultatul migrării unor celule din creasta neurală. Ele au capacitatea de a capta din sînge precursori ai monoaminelor, ca noradrenalina. De aceea, aceste celule au fost incluse în seria APUD (*amine precursor uptake and decarboxilation* — captarea și decarboxilarea precursorilor aminelor).

El a remarcat, de asemenea, că celulele crestei neurale nu sînt predeterminate; cu alte cuvinte, că aceste celule se diferențiază sub influența semnalelor specifice primite în cursul migrării. Dovadă, printre altele, și faptul că celulele ganglionului cervical superior, celule adrenergice, pot sintetiza acetil-colină în condiții de cultură particulare.

Natura factorilor diferențiatori este aproape necunoscută. S-a reușit să se izoleze un factor care transformă celulele adrenergice în celule colinergice. Nu s-a reușit însă să se identifice factorul cu acțiune inversă.

Cercetările mai vechi de embriologie au demonstrat că cei mai mulți inductori sînt macromolecule.

Există însă și substanțe inhibitorii. Și ele sînt produse tot de celulele adiacente. Celulele inimii adulte de broască sintetizează o substanță specifică ce inhibă dezvoltarea inimii embrionilor din aceeași specie. Această observație ca și altele similare au dus la concluzia că celulele diferențiate împiedică celulele învecinate de a urma același drum de diferențiere.

Celulele au astfel capacitatea de a comunica. Așa se explică și faptul că celulele care alcătuiesc aceeași structură, un tub renal de pildă, se recunosc și se unesc.

Mecanismul de reglare al activității genelor rămîne încă necunoscut. După toate probabilitățile, primul control îl exercită o parte dintre structurile cromozomale. Se pare că

cel mai important rol l-ar avea proteinele nehistone. Presupunerea se bazează pe două categorii importante de fapte: marea lor diversitate — mai multe sute de tipuri diferite — și abundența lor relativă în unele etape ale diferențierii celulare.

Histonele ar avea o funcție similară. Se admite că prin modificare (acetilare sau metilare) ar putea promova sau inhiba transcripția.

Foarte probabil, transcripția este controlată și de secvențele de ADN repetitiv, dispersate printre secvențele unice de ADN. Mai exact, elementele de control ar fi situate în aceste secvențe.

Sinteza proteinelor este supusă însă unui control continuu. Posttranscripțional, în nucleu are loc transformarea ARN-ului eterogen în ARNm activ, iar în citoplasmă intervin unii dintre factorii care modelează translația.

Indiferent de mecanismul reglării genice, zigotul mamiferelor începe să sintetizeze ARNm în stadiul de 2—4 celule. La amfibieni are loc paralel sinteza unei mari cantități de ARN ribozomal. Pentru producerea unei asemenea cantități se desfășoară un proces cu totul particular, și anume amplificarea ADN-ului organizatorului nucleolar. În scurt timp apar 1 000—1 500 de nucleoli suplimentari, fiecare dintre ei funcționînd intens. Amplificarea durează puțin.

Diferențierea celulară este plină de incertitudini. Este sigur însă că cele mai multe dintre celulele specializate exprimă doar 20% din informația lor genetică iar uneori și mai puțin, de exemplu, eritrocitele nu folosesc decît 5%. Este de asemenea cert că fiecare celulă sau grup de celule intră în funcțiune într-un moment dat al ontogenezei. În tabelul 4 se specifică perioada în care intră în acțiune o serie de gene.

Firește, o serie de caractere, dintre cele menționate mai sus sînt condiționate de mai multe gene care intră în acțiune succesiv.

Diferențierea celulară se desfășoară conform programului genetic al speciei. Activarea sau inactivarea secvențială a genelor este controlată de factori celulari și extracelulari. Orice perturbare condiționată de anomalii cromozomale, de mutații genice sau de substanțe din mediul ambiant care interferează un proces biochimic poate să ducă la apariția unei malformații congenitale.

Este cert, de pildă, că diferențierea sexuală este determinată inițial genetic. Ulterior, cel puțin în cazul diferențierii

Tabelul 4

Momentul apariţiei unor caractere umane

(după Rothwell, 1977)

Caracterul	Momentul apariţiei
Lanţul alfa hemoglobinic	embriogeneză timpurie
Lanţul beta hemoglobinic	embriogeneză timpurie
Polidactilia	embrion
Dermatoglife	embrion
Lanţul gamma hemoglobinic	săptămîna a 12-a embrionară
Lanţul beta hemoglobinic	în jurul naşterii
Lanţul delta hemoglobinic	în jurul naşterii
Fenilalanin hidroxilaza	curînd după naştere
Alcaptonuria	la naştere
Pigmentul irisului	cîteva săptămîni după naştere
Sindromul Lesch-Nyhan	cîteva luni după naştere
Rahitismul vitamino-rezistent	4—6 luni
Distrofia musculară de tip Duchenne	2—5 ani
Dezvoltarea sînilor şi a bărbii	la pubertate
Boala Huntigton	20—40 de ani

masculine, realizarea structurilor specifice reclamă participarea hormonilor gonadali.

La începutul vieţii intrauterine progonada este constituită din două formaţiuni: una periferică, corticala, şi una centrală, medulara. Evoluţia corticalei va duce la formarea ovarului iar a medularei, la formarea testiculului. Transformarea medularei este un proces activ care reclamă participarea unei substanţe specifice, antigenul Y, specificată de o genă situată pe cromozomul Y. Antigenul este prezent la toţi indivizii cu gonade testicule, indiferent dacă sînt bărbaţi normali XY, bărbaţi XX sau hermafrodiţi adevăraţi XX. În ultimele două cazuri fragmentul Y care poartă gena specifică a fost transferat pe alt cromozom.

Embrionii XX nu produc acest antigen. În absenţa lui progonada se diferenţiază pasiv ca ovar. Deci diferenţierea gonadală este determinată de prezenţa sau absenţa unui factor particular (Gordon, 1978). La sfîrşitul lunii a doua organogeneza s-a terminat.

În perioada de organogeneză gonadală viitoarele organe genitale sînt reprezentate de o pereche de ducte paralele, ductul lui Wolff şi cel al lui Müller, şi de sinusul uro-genital. Canalul lui Wolff derivă din pronefros, iar cel al lui Müller dintr-o invaginare a celomului. Din canalul lui Wolff vor

deriva epididimul, veziculele seminale şi ductele ejaculatorii iar din sinusul uro-genital, prostata, scrotul şi penisul. Din canalul lui Müller se vor diferenţia organele genitale feminine — trompele, uterul, vaginul — iar din sinusul uro-genital, vestibulul vaginal, clitorisul şi labiile.

La mamifere în absenţa oricărui inductor are loc feminizarea sistemului müllerian şi regresiunea celui wolffian. Embrionul de mamifere are un program spontan de diferenţiere feminină. Acest program a fost descoperit de mult. În 1947 Jost a demonstrat că eliminarea testiculelor înainte de intrarea lor în funcţiune feminizează tot sistemul de organe genitale interne şi externe. Dacă însă se administrează mamei testosteron, imediat după castrarea embrionului, începe evoluţia derivatelor wolffiene.

Diferenţierea sistemului wolffian este controlată de androgeni. Involuţia sistemului müllerian impune prezenţa unui factor testicular specific, şi anume a hormonului anti-müllerian. Acest hormon a fost sintetizat. Este un peptid (Josso şi col., 1977). În gonadă este produs de celulele Sertoli şi acţionează şi asupra celulelor XX şi asupra celulelor XY.

Masculinizarea impune intrarea în funcţiune a testiculelor imediat ce perioada de organogeneză s-a terminat. Nivelul testosteronului circulant începe să crească din a 56-a zi de graviditate şi atinge un maxim în ziua a 112-a (3,0 ng/ml). Nivelul se apropie de cel al bărbatului adult. După ziua a 112-a concentraţia diminuează progresiv. Testosteronul sintetizat în testicul este secretat în sistemul wolffian şi acţionează direct. Aşa se explică faptul că hermafrodiţii adevăraţi au derivate wolffiene de partea testiculului şi derivate mülleriene de partea ovarului.

Apariţia gonadelor este condiţionată genetic la toate mamiferele: mediul ambiant nu poate altera diferenţierea, mai exact nu poate inversa structura şi implicit funcţia gonadei. Există o singură excepţie importantă, aşa-numitul free-martinism; o intersexualitate care apare la membrul feminin al unui cuplu de gemeni dizigoţi de bovine, celălalt membru fiind un mascul. Intersexualitatea survine doar dacă gemenii schimbă, prin anastomoze placentare, celule şi hormoni. Intersexualitatea nu este însă rezultatul transferului direct de testosteron, ci al transferului de celule XY.

Studiul șoarecilor alofenici (rezultați din fuziunea experimentală a doi embrioni în primele stadii de diviziune) a scos în relief un aspect important: celulele somatice ale gonadei pot fi inversate funcțional; componenta germinală nu poate suferi această transformare. Mintz (1968) a reușit să creeze o himeră ale cărei testicule erau constituite din celule XX și XY. Deși primele erau în majoritate, toate celulele germinale erau XY. S-au avansat mai multe ipoteze pentru a explica ireversibilitatea celulelor germinale ale mamiferelor. Ele au fost sumarizate de Gordon (1978):

— Meioza spermatocitului implică prezența unui singur X inactiv. În spermatocitele XX unul dintre cei doi X se inactivează, dar cel de-al doilea X blochează meioza;

— Meioza oocitului impune prezența a doi X, ambii activi. Absența unuia dintre ei sau prezența unei constituții XY perturbă diviziunea celulară. Probabil un singur X nu poate asigura cantitatea de enzime necesare diviziunii sau alternativ Y-ul dereglează diviziunea celulară.

La alte clase de organisme însă mediul extraembrionar poate determina inversarea funcționalității gonadei, după structuralizarea ei unisexuată (fenomenul se numește inversarea sexului). Prezența estrogenilor în apă transformă un embrion masculin de *Xenopus laevis* într-o femelă funcțională, iar testosteronul transformă embrionii feminini ai unor specii de pești (*Oryzias latipes*) în masculi funcționali.

Gonadogeneza poate fi perturbată de factori variați: de anomalii gonozomale, de mutații genice și, probabil, de tulburări imunologice.

La șoarece, de pildă, s-a identificat o mutație dominantă Sex reversed (Sxr) care masculinizează fenotipic indivizii XX. Purtătorii mutației au gonade testicule, dar spermatogeneza lipsește.

Intersexualitatea poate fi la fel de bine determinată de un factor extra-gonadal. La om și la șoarece apare o mutație care blochează efectul androgenilor în celulele țintă. Mutația care condiționează sindromul testiculului feminizant se găsește pe cromozomul X și probabil specifică un receptor nucleo-citozolic defectiv. Testiculele sînt normale și structural și funcțional.

Tot o mutație genică explică și apariția disgeneziei gonadale pure XY (vezi cap. Citogenetica umană).

Tulburările de formare a ovarului nu alterează edificarea organelor genitale, deoarece, așa cum s-a mai spus, feminizarea este un proces pasiv.

Gonadogeneza este doar unul dintre numeroasele exemple care demonstrează că hormonii reglează expresia genică. Începe să devină mai clar și modul în care acționează hormonii.

Estrogenii și progesteronul mediază creșterea și diferențierea oviductului de găină. Administrarea acestor hormoni antrenează o serie de modificări intracelulare: creșterea nivelului ARN-ului nuclear, creșterea nivelului ARN-polimerazei, modificarea proteinelor nehistone cromatiniene și creșterea cantității de ovalbumină.

Administrarea intermitentă a estrogenilor diminuează nivelul general al ARN-ului și implicit și cantitatea de ovalbumină.

Pentru a explica aceste fenomene, O'Malley și col. (1976) presupun, pe baza unor date experimentale, că progesteronul acționează asupra unui receptor specific situat în citoplasmă în absența hormonului și în nucleu după legarea

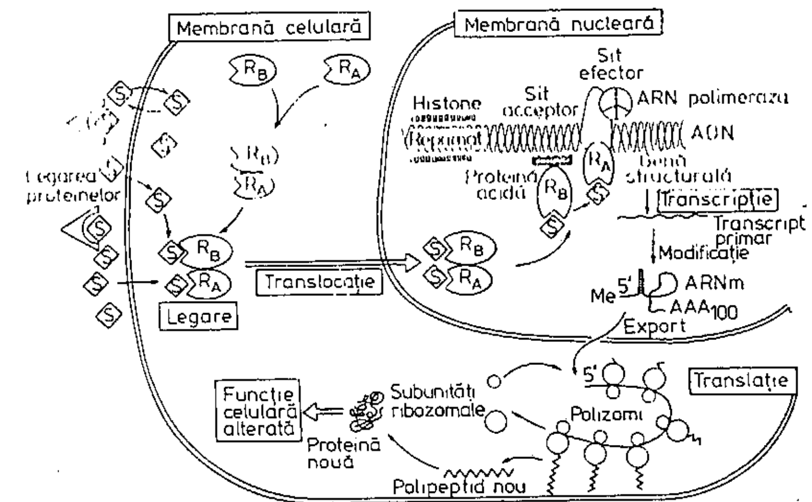


Fig. 15. Mecanismul ipotetic al acțiunii hormonilor steroizi în oviductul de pasăre (după O'Malley și colab., 1976).

lui de hormon. Receptorul este un dimer compus din două subunități, A și B. După legare, fiecare subunitate acționează asupra unei regiuni specifice din cromozom. Subunitatea A se leagă de secvențe de ADN pur iar subunitatea B, de un sit acceptor. În spiritul acestei ipoteze, subunitatea B ar avea funcția de recunoaștere a genelor specifice iar subunitatea A ar avea rolul de a regla direct activitatea genei permițînd ARN-polimerazei inițierea transcripției.

EREDITATEA MENDELEEANĂ

Pentru a explica mai clar modul de transmitere a caracterelor, vom considera gena ca acea „cantitate de informație privind un caracter elementar, transmisă de un părinte descendenților săi" (Jacquard, 1970).

Fiecare organism cu reproducere sexuată are două gene pentru un caracter elementar. Cele două gene ocupă aceeași poziție în cromozom, același locus. Deci în cei doi cromozomi omologi, unul matern și unul patern, pe același locus se găsesc gene care controlează același caracter elementar.

Genele situate pe același locus au fost numite alele, gene omoloage sau gene aparținînd aceleiași clase de omologie. În sens larg, alelele sînt forme alternative ale unei gene date. Pe un locus se pot găsi, într-o populație, mai multe alele, uneori zeci. Ele sînt rezultatul mutațiilor succesive ale unei gene inițiale. Cînd cele două gene de pe cei doi cromozomi sînt identice, individul este homozigot pentru gena dată. Cînd alelele sînt diferite, individul este heterozigot.

O genă se poate manifesta fenotipic în formă heterozigotă și/sau homozigotă. Gena care se exprimă fenotipic și în stare heterozigotă și în stare homozigotă se numește dominantă. Gena care se manifestă numai în formă homozigotă se numește recesivă. Putem spune la fel de bine că alela A este dominantă față de alela a sau că alela a este recesivă față de alela A.

Aceasta este accepția clasică a celor doi termeni. Distincția este valabilă doar la nivel fenotipic. La nivel molecular, diferența este mai puțin clară.

Structura genetică a unui locus a fost numită genotip. În alt sens, genotipul reprezintă totalitatea materialului genetic al unei celule sau organism.

Caracteristicile observabile controlate de o genă constituie fenotipul. Ca şi în cazul genotipului, conceptul are şi un sens mai larg. Fenotipul, în acest sens, este totalitatea caracteristicilor unui organism. Fenotipul este expresia unei anumite structuri genetice în condiţii particulare de mediu. Datorită mediului, organisme cu acelaşi genotip pot avea fenotipuri deosebite. Alteori acelaşi fenotip poate fi condiţionat de genotipuri diferite, de pildă de o genă dominantă în stare heterozigotă sau de aceeaşi genă în stare homozigotă.

O genă oarecare poate fi situată fie în autozomi, fie în cromozomii de sex şi se poate transmite fie dominant, fie recesiv. Astfel, se deosebesc două tipuri de transmitere a caracterelor, de fapt a genelor: autozomală şi legată de sex.

Convenţional, alela dominantă o vom numi A şi alela recesivă, a. În populaţie se găsesc deci trei genotipuri: AA-Aa şi aa; primii sînt homozigoţi pentru alela dominantă, următorii sînt heterozigoţi iar ultimii sînt homozigoţi pentru alela recesivă, a.

Indivizii AA produc numai gameţi A; indivizii Aa produc 50% gameţi A şi 50% gameţi a, iar homozigoţii aa produc numai gameţi a.

TRANSMITEREA DOMINANTĂ AUTOZOMALĂ

În urmă cu cîţiva ani am studiat o familie cu o malformaţie severă a extremităţilor, cunoscută sub numele de ectrodactilie. Malformaţia a putut fi urmărită de-a lungul a 5 generaţii la 32 de indivizi. La toţi anomalia era prezentă şi la membrele superioare şi la cele inferioare. Analizînd arborele genealogic al familiei, am remarcat că indivizii normali au avut numai copii normali, în timp ce indivizii malformaţi au avut şi copii normali şi copii anormali.

Pentru a ne explica acest fapt am pornit de la premisa că în cursul formării celulelor germinale are loc reducerea numărului de cromozomi şi, implicit, şi de gene. În acest fel gameţii au un singur locus specific, mai exact, dintre cele două exemplare pe care le posedă celulele diploide, gameţii au păstrat numai unul. Întîmplarea hotărăşte care.

În cazul de faţă malformaţia este condiţionată de o singură mutaţie situată pe unul dintre autozomi. Purtătorii mutaţiei au astfel două feluri de gameţi: unii cu mutaţia pentru ectrodactilie şi alţii fără această mutaţie.

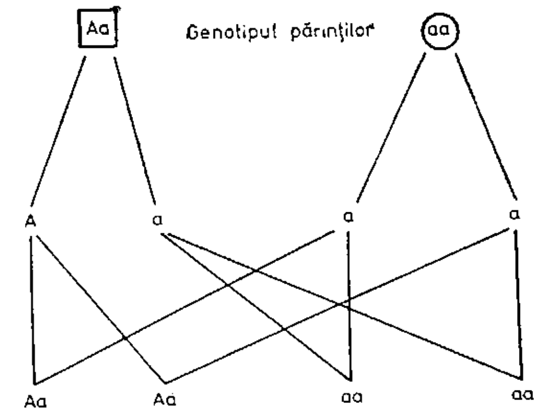


Fig. 16. Din căsătoria unui heterozigot (Aa) cu un homozigot normal (aa) rezultă 50% copii heterozigoţi şi deci afectaţi şi 50% homozigoţi normali.

Să presupunem că un individ malformat se căsătoreşte şi că partenerul lui este normal. În asemenea împrejurări 50% dintre descendenţi sînt normali şi 50% sînt anormali (fig. 16). Cu alte cuvinte, cînd unul dintre părinţi are o malformaţie condiţionată de o mutaţie dominantă în formă heterozigotă, riscul recurenţei este de 1/2 (fig. 17).

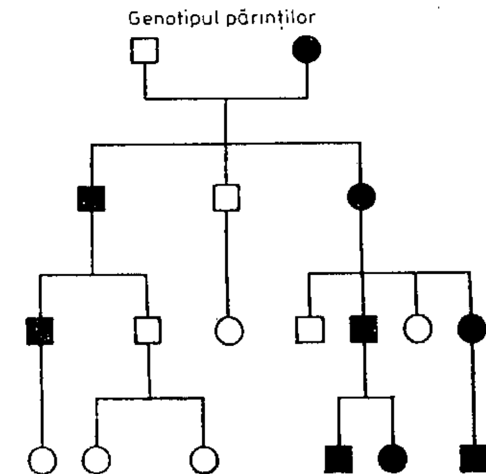


Fig. 17. Arborele genealogic al unei familii cu polidactilie.

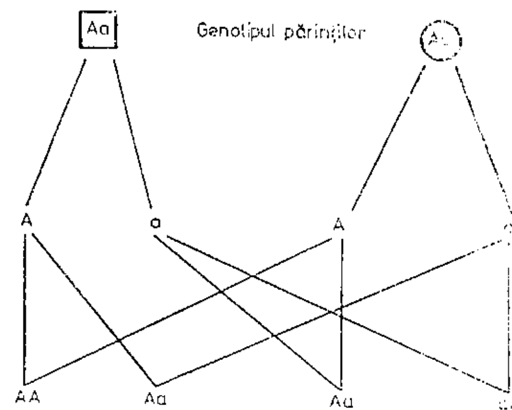


Fig. 18. Din uniunea a doi heterozigoţi rezultă 25% homozigoţi anormali (AA), 50% heterozigoţi (Aa) şi 25% homozigoţi normali (aa).

Căsătoria dintre doi heterozigoţi pentru o mutaţie dominantă cu efecte detrimentale este un eveniment relativ rar. Să presupunem totuşi că doi indivizi cu ectrodactilie se căsătoresc. Aşa cum se vede din fig. 18, 75% dintre descendenţii lor sînt anormali. O treime dintre ei, deci 25% din totalul copiilor, sînt homozigoţi anormali. Teoretic cel puţin ei ar trebui să prezinte malformaţii mai grave decît heterozigoţii. Am spus teoretic, deoarece în marea majoritate a cazurilor,

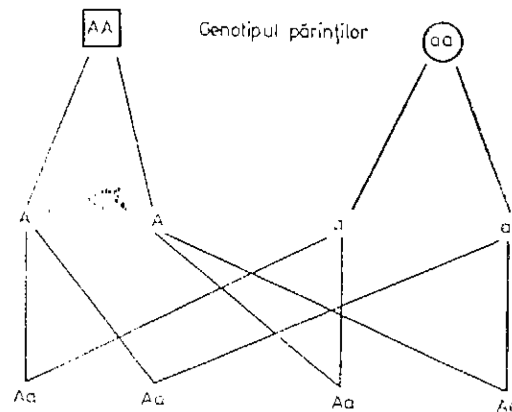


Fig. 19. Din căsătoria unui homozigot anormal (AA) cu un homozigot normal vor rezulta copii heterozigoţi (Aa).

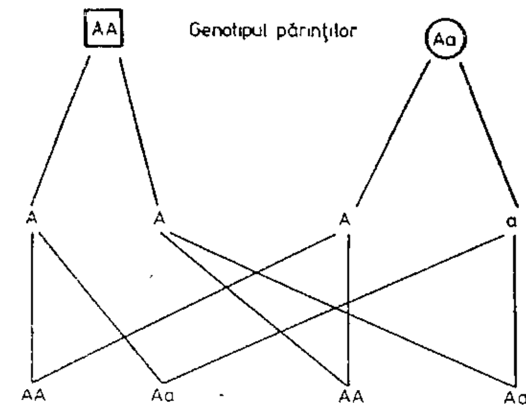


Fig. 20. În ipoteza excepţională în care un homozigot (AA) se căsătoreşte cu un heterozigot (Aa) toţi copiii sînt anormali — 50% homozigoţi şi 50% heterozigoţi.

ştim care sînt manifestările unei mutaţii în formă heterozigotă, dar nu ştim care sînt manifestările ei în formă homozigotă. 25% dintre copiii rezultaţi din asemenea uniuni sînt însă normali. Ei sînt homozigoţi normali şi vor avea numai descendenţi normali (fig. 18).

Să presupunem, mai departe, că există homozigoţi pentru o mutaţie dominantă şi că unul dintre ei se căsătoreşte cu un homozigot normal. Toţi copiii rezultaţi din această căsătorie sînt heterozigoţi şi ca atare afectaţi (fig. 19).

Un homozigot se poate căsători şi cu un heterozigot. Toţi descendenţii lor vor fi anormali: 50% homozigoţi şi 50% heterozigoţi (fig. 20).

În sfîrşit, se pot căsători şi doi homozigoţi. Dintr-o asemenea uniune, probabil excepţional de rar întîlnită în patologia umană, se vor naşte numai homozigoţi anormali.

Se cunosc, pînă acum, cel puţin 1 800 de caractere (normale şi îndeosebi patologice) care se transmit dominant autozomal. Unele mutaţii au putut fi urmărite de-a lungul unui mare număr de generaţii. Familia cercetată de noi ar putea fi un exemplu. Lamy (1975) reamintea altul. În anul 1637 s-a născut în regiunea Montpellier un copil care era hemeralop, afecţiune caracterizată prin diminuarea vederii crepusculare şi nocturne. Mutaţia a fost transmisă apoi de-a lungul a 9 generaţii la 134 de indivizi.

Mohr a descris cu mulţi ani în urmă o familie de norvegieni cu brahidactilie (scurtarea unei falange la unul sau mai multe degete). Istoria malformaţiei începe în secolul al XVIII-lea şi poate fi urmărită pînă în zorii acestui veac.

O observaţie şi mai interesantă a fost publicată de Gamstorp. Ea a studiat o familie cu paralizie musculară transientă, o tulburare relativ uşoară, caracterizată prin apariţia unor paralizii trecătoare ale unuia sau ale tuturor membrelor. Episoadele apar în general o dată pe săptămînă şi durează puţin, cîteva minute, cel mult o oră. Se presupune că mutaţia a apărut în secolul al XVII-lea. Ea s-a transmis de-a lungul a 9 generaţii. La începutul deceniului al cincilea al acestui secol existau 91 de bolnavi.

Am vorbit despre dominanţa ca despre un fenomen biologic cert, şi la fel vom vorbi despre transmiterea recesivă. Dar nu trebuie uitat că aceste categorii „constituie abstracţii dictate de necesităţi practice. Ele sînt numai aproximaţii ale unei imagini obiective a faptelor biologice" (Fuhrmann-Vogel, 1976).

Din datele de mai sus se desprind particularităţile eredităţii dominante autozomale:

— mutaţia poate fi transmisă de oricare dintre părinţi. Nu are importanţă, de pildă, dacă tatăl este Aa şi mama aa sau invers;

— riscul recurenţei oscilează între 50 şi 100%;

— ambele sexe sînt la fel de frecvent afectate;

— descendenţii indemni au numai copii indemni — cu puţine excepţii, atunci cînd mutaţia are penetranţă redusă;

— mutaţia se transmite din generaţie în generaţie pînă cînd va fi eliminată de selecţia naturală sau se pierde prin procesele genetice întîmplătoare. Se cunosc boli dominante care apar frecvent şi boli dominante care apar aproape întotdeauna sporadic, deoarece fitness-ul purtătorilor este foarte mic — mutaţia are efecte letale şi purtătorii sînt eliminaţi înainte de începutul perioadei reproductive sau antrenează sterilitatea. Iată două exemple. Sindromul Apert, care se distinge printr-o sinostoză precoce care dă craniului o formă de turn (acrocefalie) şi prin sindactilie, apare practic întotdeauna sporadic. Scleroza tuberoasă, o altă tulburare ereditară, apare sporadic în 80% dintre cazuri.

CODOMINANŢA

Conform definiţiei date mai înainte, o genă dominantă se manifestă în stare heterozigotă. Uneori însă se manifestă fenotipic ambele alele. De exemplu, un individ cu grupa sangvină AB are ambii antigeni, şi A şi B. Cele două gene, care controlează grupele sangvine A şi B, se numesc codominante (fig. 21).

În patologia umană se întîlnesc extrem de rar homozigoţi pentru o mutaţie dominantă cu efecte negative. Ei provin din părinţi heterozigoţi pentru aceeaşi mutaţie. În mod excepţional unul dintre părinţi prezintă toate manifestările clinice iar celălalt, deşi purtător, este aparent indemn: mutaţia are penetranţă incompletă.

Teoretic un homozigot prezintă un complex clinic mult mai sever decît un heterozigot. Un număr suficient de mare de observaţii demonstrează că există, deseori, o deosebire evidentă între un homozigot şi un heterozigot.

În 1919 Mohr şi Wriedt au raportat un copil cu malformaţii scheletice multiple, printre care şi absenţa degetelor de la mîini şi de la picioare, născut din părinţi consangvini cu brahidactilie (scurtarea degetelor). Copilul a murit la vîrsta de un an. Aceiaşi părinţi au mai avut o fată care avea doar brahidactilie moderată. Ea era heterozigotă ca şi părinţii ei.

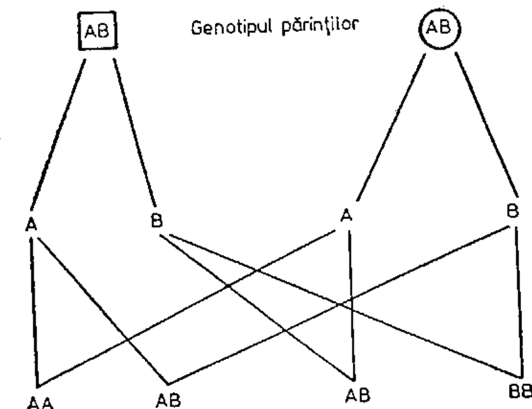


Fig. 21. Din doi părinţi cu grupa sangvină AB rezultă copii AA, A şi BB.

Un alt exemplu: Snyder şi col. (1944) au studiat un copil cu telangiectazii (dilataţii ale vaselor mici care formează pete caracteristice pe piele). Copilul a murit curînd după naştere. Părinţii lui aveau telangiectazie ereditară hemoragică.

Mecanismul molecular a fost elucidat în puţine tulburări. Exemplul cel mai cunoscut este hipercolesterolemia familială, o tulburare a metabolismului lipidelor. Din punct de vedere biochimic s-au identificat mai multe tipuri. Unul dintre ele, tipul II, este condiţionat de o serie de mutaţii recesive autozomale.

Colesterolul este transportat în celulă sub formă de lipoproteine cu densitate mică (îndeosebi). Pătrunde în celulă prin endocitoză după ce s-a legat de receptorii de membrană. Pătruns în celulă blochează sinteza unor receptori suplimentari. Controlul sintezei colesterolului depinde astfel de capacitatea celulelor de a-şi regla numărul receptorilor de membrană şi de prezenţa unui sistem enzimatic adecvat. Prezenţa receptorilor este condiţionată de genele R^{b+i+}. Mai multe mutaţii pot perturba acest proces. Mutaţia R^{b0} alterează formarea receptorilor iar mutaţia R^{b-} alterează legarea colesterolului de receptori. O altă mutaţie $R^{b+i\odot}$ împiedică ciclul celular al colesterolului, lăsînd intacţi receptorii de membrană.

In cele din urmă toate mutaţiile măresc concentraţia de colesterol din sînge şi depunerea lui pe pereţii vaselor. Evident, intensitatea leziunilor este considerabil mai mare la homozigoţi decît la heterozigoţi. La heterozigoţi primele manifestări clinice apar în jurul vîrstei de 50 de ani, în timp ce la homozigoţi ele sînt foarte timpurii — înainte de 20 de ani.

TRANSMITEREA RECESIVĂ AUTOZOMALĂ

O mutaţie recesivă se manifestă fenotipic, în marea majoritate a cazurilor, doar în formă homozigotă. De aceea, în mod obişnuit, homozigoţii provin din părinţi clinic normali şi, evident, heterozigoţi. Dacă A este simbolul alelei normale şi a este simbolul mutaţiei recesive, atunci, aşa cum se vede din fig. 22, 25% dintre descendenţii părinţilor heterozigoţi, sînt homozigoţi normali, 50% sînt heterozigoţi şi 25% homozigoţi anormali. Raportul este deci de 1:2:1. Cu alte cu-

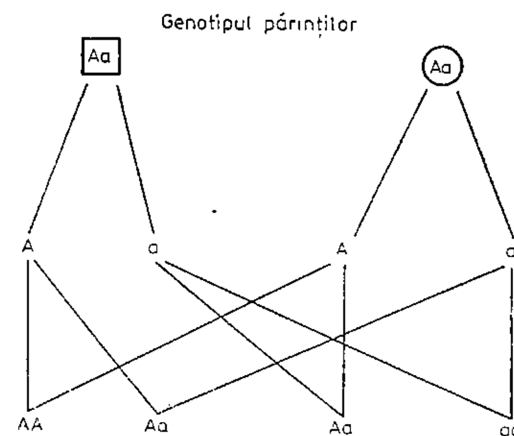


Fig. 22. Doi părinţi heterozigoţi au un risc de 25% de a avea un copil anormal; alţi 50% dintre copiii lor sînt teoretic heterozigoţi (Aa).

vinte, orice cuplu heterozigot are un risc de $1/4$ de a avea un copil homozigot pentru o mutaţie specifică.

Şansa ca un individ heterozigot să se căsătorească cu un alt heterozigot depinde de frecvenţa genei în populaţie. Probabilitatea creşte dacă soţii sînt rude (consangvini). De aici se poate deduce că cu cît mutaţia este mai rară, cu atît este mai mare procentul de consangvinitate printre părinţii copiilor afectaţi. Dealtminteri, existenţa consangvinităţii constituie o indicaţie că tulburarea este condiţionată de o mutaţie recesivă.

Raportul 3:1 observat în ipoteza discutată are o valoare mai curînd teoretică. În practică cele mai multe observaţii sînt sporadice. Aceasta nu înseamnă că tulburarea nu este ereditară. Concentrarea familială aşteptată este întîlnită destul de rar. S-a calculat, de pildă, că dacă s-ar studia 16 familii cu cîte doi copii, părinţii fiind evident heterozigoţi, într-una singură ar fi afectaţi ambii copii, în 6 va exista un singur copil anormal, iar în celelalte 9 ambii copii ar fi normali.

Foarte rar un homozigot anormal se căsătoreşte cu un heterozigot. Din asemenea uniuni rezultă 50% copii homozigoţi, handicapaţi genetic, şi 50% heterozigoţi (fig. 23).

În mod cu totul excepţional, se căsătoresc doi homozigoţi cu o mutaţie specifică. Aceste cupluri au numai descendenţi

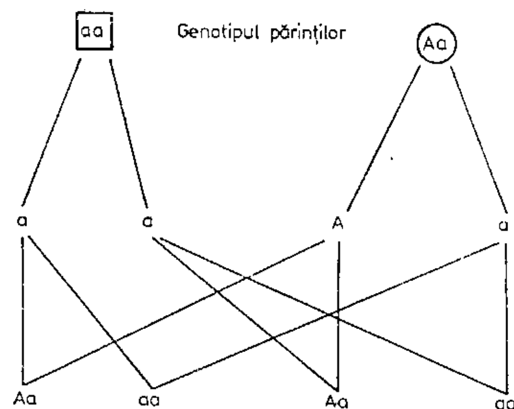


Fig. 23. Din căsătoria unui homozigot anormal aa cu un heterozigot Aa rezultă 50% copii anormali (aa) şi 50% heterozigoţi.

anormali. Uneori este greu de precizat însă dacă soţii sînt purtătorii aceleiaşi mutaţii. Surditatea este condiţionată de mai multe mutaţii situate pe loci distincţi. Dacă soţii sînt surzi, dar tulburarea fiecăruia este condiţionată de gene nealele, atunci ei vor avea numai copii normali fenotipic. Sub raport genetic, copiii sînt dublu-heterozigoţi.

O situaţie frecventă care trece neobservată este căsătoria unui heterozigot cu un homozigot normal pentru aceeaşi genă. Subliniem acest fapt — pentru aceeaşi genă —, deoarece fiecare dintre noi este heterozigot pentru cîteva gene cu efecte negative în formă homozigotă. Cum cele mai multe mutaţii sînt rare, riscul de a întîlni alt heterozigot este relativ mic. Riscul este condiţionat de frecvenţa genei în populaţie.

Înainte de a sumariza particularităţile eredităţii recesive reamintim că pînă acum s-au descoperit aproximativ 950 de boli recesive autozomale.

Ereditatea recesivă prezintă o serie de particularităţi:

— tulburarea apare într-o singură generaţie;
— numărul copiilor afectaţi este variabil;
— părinţii sînt normali;
— părinţii pot fi consangvini;
— cele două sexe sînt la fel de frecvent afectate.

CONSANGVINIZAREA

Sub raport strict genetic, căsătoria între rude are drept rezultat o creştere a homozigoţiei. Creşterea este direct proporţională cu gradul de rudenie, aşa cum se vede din tabelul 5.

Tabelul 5

Proporţia de gene comune a persoanelor înrudite

Gradul de rudenie cu probandul	Proporţia de gene comune cu probandul
Părinte, copil, frate	1/2
Bunic, nepot, unchi, mătuşă	1/4
Văr primar, străbunic, strănepot	1/8
Copilul unui văr primar	1/16
Văr de gradul II	1/32

Orice locus poate deveni homozigot, dar posibilitatea de a-l descoperi este cu atît mai mare, cu cît alela este mai rară. Aşa se explică de ce numeroase boli ereditare, condiţionate de mutaţii recesive rare, se întîlnesc mult mai frecvent printre copiii rezultaţi din uniuni consangvine decît printre cei rezultaţi din părinţi neînrudiţi.

FRECVENŢA CĂSĂTORIILOR CONSANGVINE

Incidenţa căsătoriilor consangvine în lumea contemporană este condiţionată de factori diverşi: geografici, religioşi, economici. În cele mai multe populaţii europene, frecvenţa căsătoriilor între veri primari oscilează între 1—2%. În Statele Unite ale Americii este ceva mai mică — 1‰. În Japonia variază între 5 şi 7%. În unele populaţii musulmane din India atinge valori substanţial mai mari: 40%. Dacă se iau în consideraţie şi căsătoriile între rude mai îndepărtate, procentele cresc. În general însă, în Europa cel puţin, frecvenţa acestor uniuni a scăzut şi tinde să scadă.

CONSECINŢELE CONSANGVINIZĂRII

Aşa cum se sublinia mai înainte, consangvinizarea accentuează homozigoţia. Atîta vreme cît soţii au alele normale,

căsătoria nu implică, sub raport medical, nici un risc. Dar cum fiecare individ are un număr de mutații recesive în stare heterozigotă, șansa ca ele să devină homozigote este mult mai mare decît în populațiile panmictice — populații care se încrucișează la întîmplare. În acest fel, frecvența bolilor recesive rare crește printre copiii rezultați din părinți înrudiți (tabelul 6).

Tabelul 6

Frecvența bolilor condiționate de mutații recesive autozomale rare printre descendenții părinților consangvini și neconsangvini din Japonia (după Tanaka, 1968)

Tulburarea	Frecvența afectaților printre copiii		Proporția de veri primari printre părinții bolnavilor
	părinților neconsangvini	părinților consangvini	
Fenilcetonurie	1 : 15 000	1 : 1 700	0,35
Xeroderma pigmentosum	1 : 23 000	1 : 2 200	0,40
Boala Oguchi	1 : 32 000	1 : 2 600	0,44
Albinismul complet	1 : 40 000	1 : 3 000	0,46
Acromatopsia	1 : 73 000	1 : 4 100	0,53
Microcefalia	1 : 77 000	1 : 4 200	0,54
Boala Wilson	1 : 87 000	1 : 4 500	0,55
Idioția amaurotică infantilă	1 : 310 000	1 : 8 600	0,70
Acatalasemia	1 : 360 000	1 : 9 600	0,71
Ichtioza congenitală	1 : 1 000 000	1 : 16 000	0,80

Așa cum se vede, incidența acestor boli crește considerabil printre copiii uniunilor constituite din veri primari.

De asemenea, un procent variabil, dar deseori important, de copii cu tulburări genetice relativ comune provin din uniuni consangvine. Cifrele din tabelul 7 sînt foarte mari, deoarece provin din Japonia, unde în mod obișnuit 7% dintre căsătorii au loc între veri primari.

După cum remarca Jacquard (1970), copiii proveniți din cupluri consangvine au mai puține gene în formă heterozigotă. Diminuarea heterozigoției reduce posibilitățile de adaptare la mediu. Uneori accentuarea homozigoției va antrena și o scădere a longevității, precum și o creștere a mortalității pre- și postnatale. Căsătoriile consangvine favorizează astfel

Tabelul 7

Frecvența uniunilor consangvine printre părinții copiilor cu tulburări genetice relativ obișnuite (după Komai, 1972)

Tulburarea	Părinții copiilor	
	veri primari %	total uniuni consangvine %
Surditatea congenitală	33,11	42,61
Cataractă congenitală	20,45	28,35
Opacitatea corneeană	17,44	24,54
Glaucom	20,26	27,53
Microftalmie	10,47	14,33
Atrofie optică	19,90	29,24
Retinită pigmentară	37,18	46,76
Ambliopie	30,07	37,76
Anomalii congenitale severe de refracție	13,90	16,87

apariția bolilor condiționate de mutații recesive autozomale. Ca atare, în populațiile în care fenomenul este frecvent, patologia are un profil particular. Asemenea populații sînt izolatele. Prin izolat se înțelege „orice grup uman cu efectiv redus care în cursul generațiilor a schimbat puține gene cu alte populații“ (Dalhberg, 1929) sau „populația în interiorul căreia fiecare individ are posibilitatea de a-și alege soțul“ (Sutter, 1964).

Există mai multe tipuri de izolate:

— geografice, în care populațiile sînt separate unele de altele de bariere naturale; economice — factorul separator îl constituie diferențele economice dintre membrii aceleiași populații; culturale — bariera este reprezentată de valorile culturale ale subgrupelor; sociale — populația este divizată în triburi, caste etc.; religioase; etnice; rasiale; lingvistice; politice.

Ca atare, un izolat poate exista, și chiar există, în mijlocul unui mare oraș. La rîndul lor, izolatele sînt închise, cînd nu are loc nici un schimb de gene cu alte populații, și deschise, cînd are loc un schimb redus de gene cu alte populații; simple, în ipoteza în care populațiile sînt separate de un singur factor, sau complexe, în cazul în care intervin bariere multiple.

PATOLOGIA IZOLATELOR

Probabil exemplul cel mai interesant este albinismul. Tulburarea — o eroare înnăscută în metabolismul melaninei — este condiționată de mai multe mutații independente: o mutație dominantă autozomală care condiționează albinismul parțial; o mutație recesivă legată de sex, care condiționează albinismul ocular, și o mutație recesivă autozomală sau dominant neregulată, care condiționează albinismul complet.

Albinismul, făcînd abstracție de tipul mutației, este relativ rar: 1/20 000 printre europeni și japonezi. Atinge însă frecvențe deosebit de mari printre indienii Caribe-Cuna din San Blas (Panama) și printre amerindienii din Arizona și Noul Mexic (S.U.A.). În prima populație frecvența medie a albinoșilor era în 1962 de 1/164. Iar într-un mic sat format din 632 de indivizi existau 30 de albinoși (1/21), cea mai mare concentrație întîlnită pînă acum în lume. Printre indienii Hopa din Arizona, în 1965, frecvența era ceva mai redusă: 1/140. În Noul Mexic frecvența varia de la o populație la alta, între 1/247 și 1/3 750. În toate populațiile menționate exista același tip de albinism — albinismul complet. Pentru explicația fenomenului s-a emis ipoteza, foarte plauzibilă, că mutația a apărut într-un singur grup și de acolo a difuzat în celelalte triburi.

Un exemplu la fel de concludent îl constituie fibroza chistică de pancreas. Tulburarea, condiționată de o mutație recesivă autozomală, apare relativ frecvent printre europeni: 1/1 000 — 1/3 000, ceva mai rar printre negri, 1/20 000 — 1/25 000, și foarte rar printre mongoli — 1/90 000. Importanța fondului genetic al populației a fost subliniată de cercetările efectuate în Hawaii. S-a văzut că tulburarea apare rar, printre copiii născuți din părinți mongoli și mai des printre cei ai descendenților cuplurilor europene. În populația intens „metisată“ numărul copiilor afectați era invers proporțional cu numărul străbunilor mongoli.

În Franța s-a descoperit un izolat, în arondismentul Plouzévéde, în Bretania, întemeiat de gali în secolele V și VI, în care frecvența fibrozei chistice de pancreas era semnificativ mai mare decît în restul Bretaniei: 1/137 față de 1/1 800. În acest izolat frecvența heterozigoților era de 1/10. Studiul genealogic a coborît pînă în secolul al XVIII-lea, pe 9 generații. S-a ajuns la concluzia că toți purtătorii și homozigoții contemporani descind din aceste familii. Dacă cercetarea ar fi putut continua și asupra populației din secolul al XVII-lea, atunci, foarte probabil, s-ar fi demonstrat că inițial a existat un singur heterozigot.

Surditatea este o tulburare relativ frecventă: 1—1,5‰. Ea este condiționată de mai multe mutații independente cu transmitere autozomală, dominantă sau recesivă și recesivă legată de sex. Cea mai cunoscută este forma recesivă autozomală (în realitate, s-ar putea să existe mai multe mutații cu aceleași consecințe).

În unele izolate mutația poate atinge frecvențe foarte mari. În 1960, Pfändler și Schnyder au studiat cîteva izolate din regiunea Werdenberg (Elveția). Într-o populație de 17 800 de persoane au descoperit 153 de surzi și 19 indivizi cu hipoacuzie. Toate cazurile erau concentrate în 143 de familii.

Fenomene similare au fost întîlnite și în izolatele din România. Maximilian și col. (1964) au studiat un izolat din Banat. În acest izolat 1% dintre locuitori aveau retinită pigmentară — forma condiționată de o mutație recesivă autozomală.

Frecvența bolilor ereditare poate crește considerabil și în izolatele etnice. Boala Tay-Sachs sau idioția amaurotică este cauzată de o eroare metabolică, și anume de deficiența hexozoaminidazei A, care tulbură degradarea lipidelor. Boala începe timpuriu, în jurul vîrstei de 6 luni, și duce ireversibil la moarte, spre vîrsta de 4 ani. Boala este întîlnită aproape exclusiv printre evreii așkenazi: 1/ 000 de nou-născuți. Frecvența heterozigoților este astfel de 1/30. În celelalte populații boala este extrem de rară: 1/500 000.

EREDITATEA LEGATĂ DE SEX

Cromozomul X conține, alături de gena diferențierii sexuale, numeroase gene somatice. Pe cromozomul Y nu se găsesc gene similare. Ca atare, o mutație situată pe cromozomul X se manifestă diferit la femeie și la bărbat. Deoarece o femeie are doi cromozomi X, o mutație își manifestă efectele în funcție de natura alelei sale. Bărbații au însă un singur X, deci sînt hemizigoți, și un cromozom Y. Acestuia din urmă îi lipsește o regiune omoloagă cu o regiune din cromozomul X. Implicit, orice mutație situată pe cromozomul X, indiferent dacă este dominantă sau recesivă, se manifestă fenotipic.

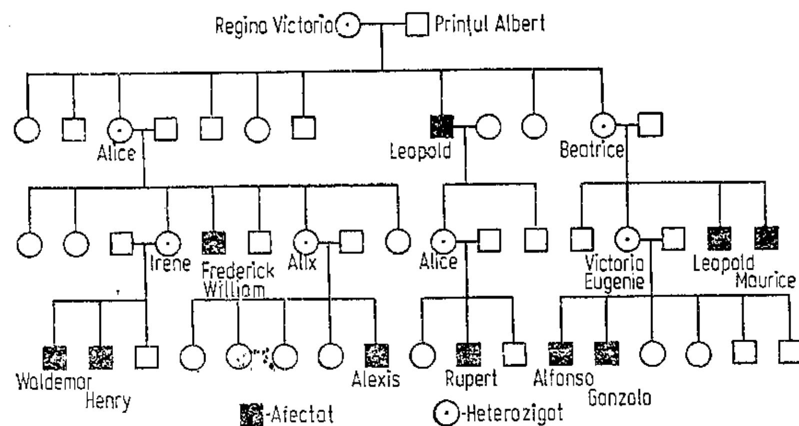


Fig. 24. Hemofilia în familia reginei Victoria.

Ca şi genele autozomale, genele situate pe cromozomul X pot suferi mutaţii şi ele se transmit dominant sau recesiv — dominant legat de sex sau recesiv legat de sex.

Cu siguranţă că cea mai cunoscută tulburare condiţionată de o mutaţie recesivă situată pe cromozomul X este hemofilia. Este o tulburare a procesului de coagulare, caracterizată clinic prin hemoragii prelungite chiar după traumatisme minore. Uneori survin hemoragii interne grave. Există două forme de hemofilie: hemofilia A, cauzată de o deficienţă a factorului antihemofilic, şi boala Christmas, determinată de o deficienţă a factorului cu acelaşi nume. Prima este cea mai frecventă, 80% din totalul cazurilor, şi cea mai gravă.

Această tulburare, cunoscută încă din antichitate, a intrat în centrul atenţiei lumii medicale în secolul trecut, cînd a apărut la unul dintre descendenţii reginei Victoria. Ulterior, în aceeaşi familie alţi 9 băieţi au avut aceeaşi boală (fig. 24). Este sigur că regina Victoria era heterozigotă. Ea a moştenit mutaţia de la mama ei sau de la tatăl ei (a fost o mutaţie spontană). Soţul ei a fost normal. Din această căsătorie au rezultat fete homozigote normale, fete heterozigote (Alice şi Beatrice), băieţi normali şi un singur băiat hemofilic.

În asemenea circumstanţe o mamă heterozigotă va avea numai fete indemne, băieţi normali şi băieţi afectaţi. Jumă-

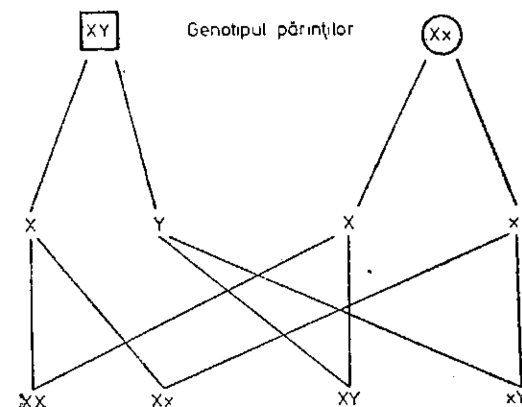


Fig. 25. Din căsătoria unei femei heterozigote (Xx) cu un bărbat normal rezultă numai fete clinic normale, băieţi normali şi băieţi afectaţi; 50% dintre fete sînt purtătoare (x = cromozom x cu mutaţia specifică).

tate dintre fete sînt însă purtătoare (heterozigote). Aşa se explică de ce marea majoritate a bolilor condiţionate de mutaţii recesive situate pe cromozomul X se întîlneşte la băieţi (fig. 25).

Unul singur dintre descendenţii hemofilici ai reginei Victoria a avut copii. Deoarece soţia lui era homozigotă normală, toţi copiii au fost sănătoşi. Toate fetele sînt teoretic purtătoare (fig. 26). Fiica lui, Alice, a fost heterozigotă,

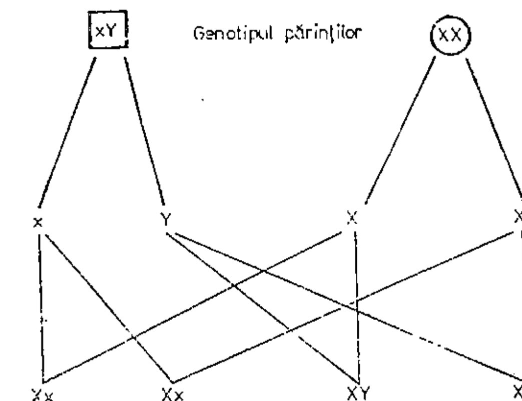


Fig. 26. Toate fetele rezultate din căsătoria unui bărbat cu o mutaţie recesivă situată pe cromozomul X sînt heterozigote şi clinic normale; băieţii sînt normali.

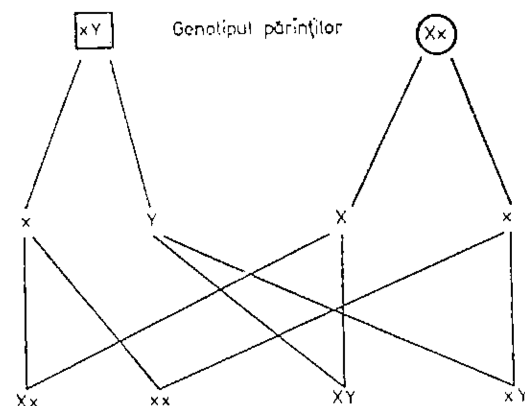


Fig. 27. Din uniunea unui bărbat afectat cu o purtătoare se nasc 25% fete heterozigote, 25% fete afectate, 25% băieţi normali şi 25% băieţi afectaţi.

dovadă că a născut un băiat hemofilic. În ipoteza în care soţia lui ar fi fost heterozigotă, eventualitate excepţional de rară, în cazul hemofiliei, s-ar fi născut şi fete afectate — aşa-numitele femei excepţionale. În aceeaşi familie ar mai fi apărut fete heterozigote, băieţi afectaţi şi băieţi normali. (fig. 27).

În ipoteza în care o mutaţie recesivă legată de sex este frecventă creşte considerabil şi numărul femeilor afectate. Exem-

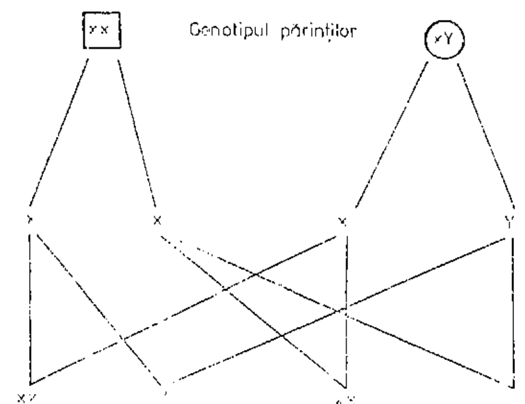


Fig. 28. Dacă o femeie homozigotă se căsătoreşte cu un bărbat afectat toţi copiii sînt anormali.

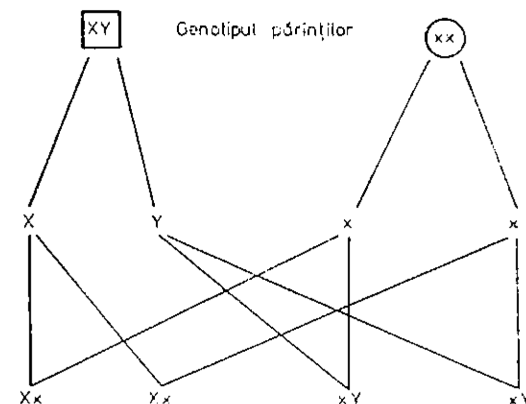


Fig. 29. Băieţii rezultaţi din căsătoria unei femei homozigote cu un bărbat normal sînt afectaţi. Fetele rezultate din aceeaşi uniune sînt heterozigote.

plui cel mai concludent îl constituie discromatopsiile, adică incapacitatea de a distinge culorile. În forma cea mai frecventă purtătorii nu pot distinge fie roşul, fie verdele. Anomalia, cunoscută sub numele de daltonism, după numele medicului scoţian Dalton (din secolul al XVII-lea) care a descris-o, este foarte frecventă — 8% printre bărbaţii şi 0,4% printre femeile din Europa. Dacă o femeie homozigotă

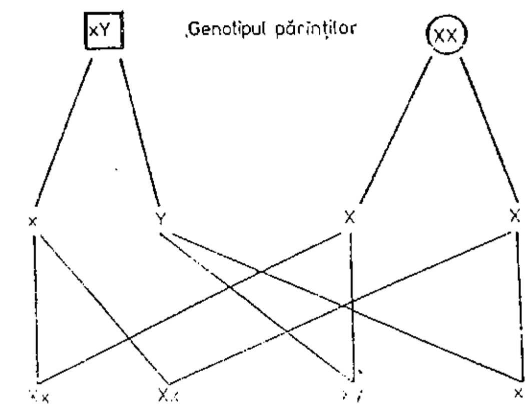


Fig. 30. În ipoteza în care tatăl este purtătorul unei mutaţii dominante legate de sex şi mama este normală, rezultă fete heterozigote şi deci anormale şi băieţi normali.

se căsătorește cu un bărbat afectat, toți copiii lor vor fi anormali (fig. 28). Dacă soțul este normal, sînt afectați doar băieții (fig. 29).

Din exemplele date mai înainte se degajă particularitățile acestui tip de ereditate: caracterul condiționat de o genă recesivă legată de sex apare mult mai des printre băieți decît printre fete; bărbații afectați nu au niciodată băieți afectați; bărbații anormali au fete heterozigote care la rîndul lor au băieți anormali.

Mutațiile dominante legate de sex sînt mai rare decît mutațiile recesive legate de sex. Aparent, acest tip de ereditate seamănă cu cel dominant autozomal. În ambele cazuri, și bărbații și femeile transmit tulburarea lor descendenților. Există însă și o deosebire importantă: bărbații afectați au fete afectate și băieți sănătoși (fig. 30).

*

Ereditatea legată de sex nu trebuie confundată cu ereditatea limitată de sex. În ultima ipoteză, caracterul este condiționat de gene prezente în ambele sexe care se manifestă însă într-un singur sex.

Pilozitatea facială și toracică este o caracteristică masculină. Ea apare însă în circumstanțe particulare și la femeie. Acest fapt demonstrează că foliculii piloși sînt prezenți în cele două regiuni la ambele sexe. Foliculul pilos este sensibil la un anumit nivel de testosteron. O femeie care dezvoltă o tumoră ce secretă androgeni sau care primește o doză relativ mare de testosteron poate prezenta o pilozitate similară cu cea a bărbatului.

Sînii sînt, de asemenea, o caracteristică de sex. Dezvoltarea lor implică prezența unei cantități minime de estrogeni. Sub această limită sînii nu se dezvoltă, așa cum se observă la femeile cu sindrom Turner. În ipoteza în care nivelul estrogenilor crește și la bărbați apare ginecomastia există mulți alți factori care generează aceeași anomalie.

Hormonii au deci un rol hotărîtor în apariția celor două caractere. Ei modelează activitatea genelor specifice și orice factor care perturbă echilibrul hormonal influențează și expresia genelor.

Ereditatea influențată de sex constituie o categorie aparte. În acest caz, genele sînt prezente în ambele sexe, dar expresia lor fenotipică este influențată de sex. O mutație oarecare poate fi dominantă într-un sex și recesivă în celălalt sex.

Există însă puține asemenea exemple în biologia umană. Unul dintre ele este alopecia — absența pilozității cefalice. Uneori, tulburarea este condiționată genetic. La bărbați mutația se manifestă în stare heterozigotă (este dominantă). Femeile fac alopecie doar dacă au aceeași mutație în formă homozigotă. Se pare că această particularitate este influențată hormonal de raportul dintre androgeni și estrogeni. Un nivel crescut de androgeni favorizează expresia genei, iar un nivel mare de estrogeni blochează efectele mutației în formă heterozigotă; nu însă și efectele mutației în formă homozigotă.

EREDITATEA HOLANDRICĂ

Acest nume a fost rezervat genelor cu acțiune somatică situate pe cromozomul Y. Ca atare, caracterele condiționate de gene situate pe cromozomul Y se transmit exclusiv pe linie masculină și se manifestă exclusiv la băieți.

Pe cromozomul Y uman a fost descoperită o singură mutație, cea care condiționează dezvoltarea excesivă a părului în urechea externă. Nu este însă exclus ca și această genă să fie localizată într-un autozom (fig. 31). Este certă doar localizarea antigenului HY, despre care vom mai vorbi.

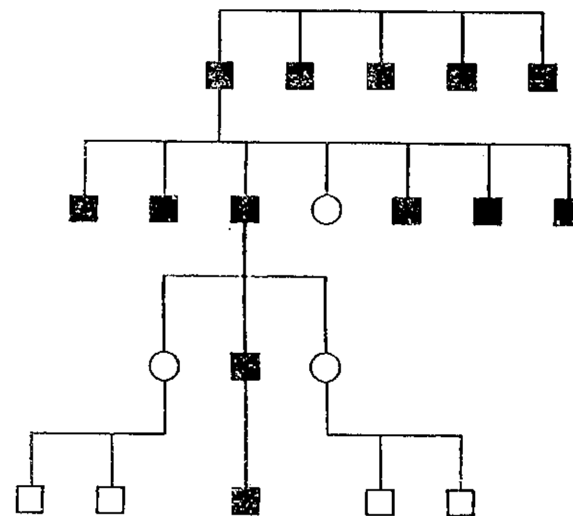


Fig. 31. Ereditatea holandrică. Hipertricoza urechilor (după J.A.F Roberts, 1973).

*

Tradițional o genă este considerată dominantă sau recesivă în funcție de capacitatea ei de manifestare fenotipică. O astfel de clasificare, utilă, fără îndoială, nu explică însă de ce o genă oarecare se manifestă fenotipic în formă heterozigotă iar altă genă, doar în formă homozigotă.

Fenomenul ar putea fi înțeles, parțial cel puțin, dacă se studiază consecințele biochimice ale unei mutații specifice.

Anemia cu celule falciforme este prezentă la homozigoții pentru hemoglobina S. Heterozigoții sînt în mod obișnuit normali. Dacă se studiază însă electroforetic hemoglobina heterozigoților se remarcă faptul că ei au două tipuri de hemoglobină, A și S. În condiții experimentale, prin reducerea accentuată a tensiunii de oxigen, hematiile lor iau o formă caracteristică de seceră (*sickling*). Așadar anemia cu celule falciforme se transmite recesiv, dar fenomenul de *sickling* se transmite dominant, el este prezent și la homozigoții și la heterozigoții pentru Hb S.

În numeroase erori de metabolism tulburările clinice sînt determinate de cantitatea de enzimă existentă. La heterozigoți activitatea enzimei specifice este intermediară între cea a homozigoților normali și cea a homozigoților anormali. Ea este suficientă pentru a acoperi necesitățile organismului. Manifestările clinice apar doar la homozigoții anormali sau foarte rar la heterozigoți dacă enzima are o distribuție limitată, ca în porfiria hepatică. Este astfel evident de ce marea majoritate a erorilor înnăscute de metabolism se transmit recesiv.

Se cunosc însă și erori de metabolism cu transmitere dominantă. Explicația lor este mai puțin clară. Se presupune că ele ar fi expresia alterării unei proteine specifice și nu a diminuării cantității de enzimă. Un mecanism similar explică și dominanța.

Sumarizînd datele cunoscute, Kahn și Dreyfus (1979) conchideau că se transmit recesiv mutațiile care determină diminuarea activității biologice; dominant se transmit mutațiile care antrenează sinteza unui produs cu efecte detrimentale proprii. În tabelul care urmează, Vogel și Motulsky (1979) prezintă cîteva dintre mecanismele de acțiune ale mutațiilor dominante.

Cele mai multe tulburări ereditare condiționate de mutații dominante nu au încă nici o explicație biochimică.

Tabelul 8

Mecanisme de acțiune ale mutațiilor dominante
(după Vogel și Motulsky, 1979)

Mecanismul	Exemplu
Agregarea anormală a subunităților proteice	diferite tipuri de fibrinogen anormal
Alterarea subunităților proteice urmată de perturbarea funcției proteinei multimerice	hemoglobinele instabile
Diminuarea inhibiției prin feedback datorită unei deficiențe enzimatice	deficiența uroporfirinogen-sintetazei în porfiria intermitentă acută
Deficiențe ale receptorilor celulari	Deficiențele receptorilor pentru lipoproteinele cu densitate mică în hipercolesterolemie
Defecte ale membranei celulare	sferocitoza ereditară
Depunerea unei proteine fibrilare anormale	amiloidoza ereditară de tip portughez

În afara interacțiunii alelice există și o interacțiune între gene nealele, deci între gene situate pe loci diferiți în același cromozom sau în cromozomi diferiți. Uneori efectele fenotipice ale unei gene pot fi blocate de altă genă. Gena care blochează expresia fenotipică a altei gene se numește epistatică, iar gena ale cărei efecte sînt blocate se numește hipostatică.

Puține exemple ilustrează acest fenomen în biologia umană. De pildă, purtătorii unei mutații specifice în formă homozigotă — mutația pentru grupul sangvin Bombay — au, indiferent de genotip, grupa sangvină 0. Mutația împiedică formarea antigenilor A și B. Deci gena Bombay este epistatică iar genele pentru grupele sangvine A și B sînt hipostatice.

S-ar putea ca unele dintre genele dominante care nu se manifestă fenotipic la unii dintre purtătorii lor (genele cu penetranță variabilă) să fie consecința unui mecanism similar. Deocamdată este o simplă presupunere.

MUTAȚII LETALE

Multe mutații nu pot fi descoperite printre nou-născuți deoarece alterează o etapă importantă a dezvoltării intrauterine și antrenează moartea embrionului. Asemenea mutații au fost numite letale. Ele sînt cromozomale sau genice.

departe că se încrucișează doi mulatri. Fiecare dintre ei produce patru tipuri de gameți: AB, Ab, aB și ab. Din combinația lor rezultă 9 genotipuri,

AABB	AABb	AaBB
AaBb	AAbb	aaBB
Aabb	aaBb	aabb

În funcție de numărul genelor A și B, a și b, se deosebesc numai cinci grupuri fenotipice:

AABB — pigmentație foarte închisă (negru);
AABb și AaBB — pigmentație închisă;
AaBb, AAbb și aaBB — pigmentație intermediară;
Aabb și aaBb — pigmentație deschisă;
aabb — pigmentație foarte deschisă (alb).

Deci din încrucișarea dintre doi mulatri pot rezulta la fel de bine copii negri, copii albi și copii cu pigmentație intermediară. Șansa ca oricare dintre ei să aibă pigmentația unuia dintre bunici este de 1/16. Cu excepția tipurilor extreme, celelalte fenotipuri pot fi condiționate de genotipuri diferite.

Să presupunem că pigmentația este condiționată de trei perechi de alele, aceasta părînd ipoteza cea mai probabilă. Din încrucișarea a doi indivizi ABC și abc, un negru și un alb, rezultă în prima generație filială indivizi cu pigmentație intermediară, ca și în ipoteza precedentă. Ei au genotipul AaBbCc. Ei produc opt tipuri de gameți: ABC; AbC; aBC; abC; ABc; Abc; aBc; abc. Prin combinarea acestor gameți iau naștere 27 de genotipuri (fig. 32). Numărul claselor fenotipice este 7 — mai mare decît în ipoteza anterioară. Între fenotipurile extreme se interpun mai multe nuanțe. De aici derivă o primă și importantă concluzie: cu cît numărul genelor care controlează un caracter este mai mare, cu atît este mai accentuată variabilitatea și cu atît este mai mică șansa ca unul dintre copii să aibă aceeași pigmentație ca și unul dintre bunici — negru sau alb. În exemplul de față această șansă este de 1/64 (8^2 = fiecare părinte producînd opt tipuri de gameți).

Cei mai mulți dintre copii au o pigmentație intermediară; urmează în ordinea frecvenței cei cu piele relativ închisă sau relativ deschisă.

Genele care participă la realizarea acestor caractere au efecte aditive. Aceasta nu înseamnă că au și efecte egale. Nu se știe, dar se pare că deseori contribuția lor este inegală.

Gameți	ABC	AbC	aBC	abC	ABc	Abc	aBc	abc
ABC	AABBCC	AABbCC	AaBBCC	AaBbCC	AABBCc	AABbCc	AaBBCc	AaBbCc
AbC	AABbCC	AAbbCC	AaBbCC	AabbCC	AABbCc	AAbbCc	AaBbCc	AabbCc
aBC	AaBBCC	AaBbCC	aaBBCC	aaBbCC	AaBBCc	AaBbCc	aaBBCc	aaBbCc
abC	AaBbCC	AabbCC	aaBbCC	aabbCC	AaBbCc	AabbCc	aaBbCc	aabbCc
ABc	AABBCc	AABbCc	AaBBCc	AaBbCc	AABBcc	AABbcc	AaBBcc	AaBbcc
Abc	AABbCc	AAbbCc	AaBbCc	AabbCc	AABbcc	AAbbcc	AaBbcc	Aabbcc
aBc	AaBBCc	AaBbCc	aaBBCc	aaBbCc	AaBBcc	AaBbcc	aaBBcc	aaBbcc
abc	AaBbCc	AabbCc	aaBbCc	aabbCc	AaBbcc	Aabbcc	aaBbcc	aabbcc

Fig. 32. Genotipurile rezultate din încrucișarea a doi indivizi ABC, și abc.

Oricum, fiecare are efecte nespecifice. Numai produsul final este specific.

Caracterele controlate de mai multe gene se numesc multifactoriale sau poligenice. Uneori se face o distincție între cele două tipuri de caractere. Se presupune că ereditatea poligenică ar fi produsul exclusiv sau aproape exclusiv al cooperării genice, în timp ce ereditatea multifactorială implică și participarea unor factori negenetici. Cum practic o asemenea diferențiere este imposibilă, preferăm să vorbim despre ereditatea multifactorială.

Caracterele multifactoriale pot fi cuantificate și de aceea se mai numesc și caractere cantitative. Dacă se studiază un asemenea caracter într-o populație dată se constată că el are o distribuție gaussiană: curba de distribuție are o formă de clopot. Majoritatea valorilor se situează în jurul mediei și un număr progresiv mai mic spre cele două extremități.

Testarea originii multifactoriale a unui caracter se face măsurînd gradul de asemănare dintre rude. Se folosește testul de corelație. Fischer a demonstrat că acest coeficient este aproximativ egal cu numărul (proporția) genelor în comun,

I, scade considerabil printre rudele de gradul II și apoi scade din nou, printre rudele de gradul III;
— Riscul recurenței depinde de gravitatea malformației probandului. Pentru rudele de gradul I riscul este cu atît mai mare, cu cît malformația este mai severă. S-a avansat următoarea explicație a fenomenului. Cei mai grav afectați sînt cei care se găsesc foarte aproape de extremitatea curbei — ei au deci cel mai mare număr de gene nefavorabile. Ca atare, și părinții lor au mai multe gene similare și implicit mai multe riscuri de a avea un nou copil anormal;
— După doi copii anormali riscul recurenței crește;
— Dacă unul dintre sexe este mai frecvent afectat, riscul recurenței este mai mare după nașterea unui copil aparținînd sexului mai rar afectat, deoarece acesta este un deviant extrem: se situează aproape de sfîrșitul curbei de distribuție. Exemplul cel mai cunoscut este cel al stenozei pilorice. Malformația este relativ frecventă la băieți — 5‰ și rară la fete — 1‰. Anomalia poate fi corectată chirurgical și supra-

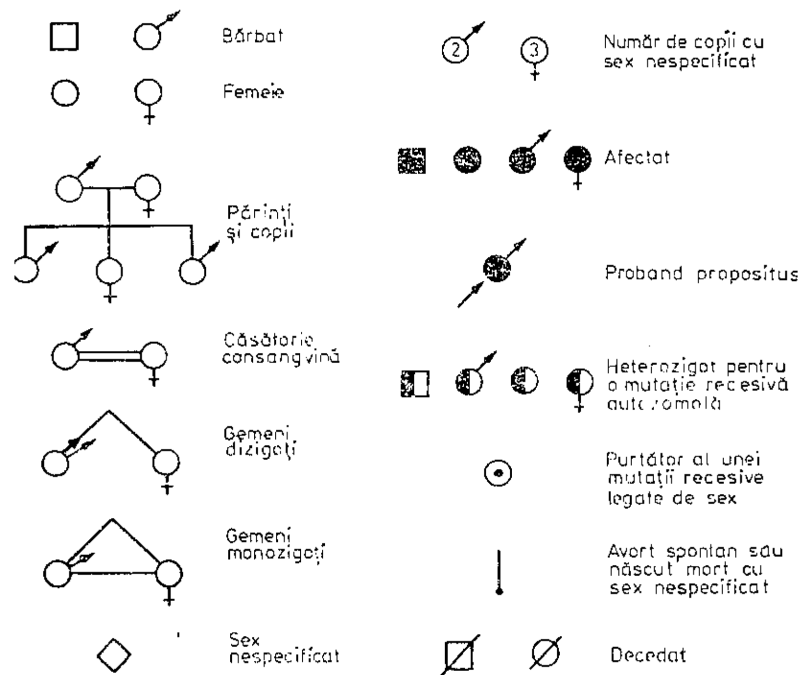


Fig. 35. Simbolurile folosite în reprezentarea arborilor genealogici.

viețuitorii se reproduc normal. Riscul recurenței depinde de sexul părintelui care a avut malformația. Astfel, în familiile în care tatăl a fost malformat procentul descendenților anormali este semnificativ mai mic — 5,5% băieți și 2,4% fete — decît în familiile în care mama a fost malformată — 18,9% băieți și 7% fete (Carter, 1964).

Ereditatea multifactorială nu este unanim acceptată ca atare. S-a afirmat că malformațiile congenitale comune ar putea fi explicate la fel de bine de alte modele: de o singură genă majoră în cooperare cu mai multe gene cu efecte minore aditive sau de o singură genă cu două alele cu penetranță incompletă. În practică nu are nici o importanță explicația reală, cel puțin în etapa actuală a dezvoltării geneticii. Rămîne cert că o parte dintre malformațiile umane reclamă intervenția eredității și a mediului.

Iată, în încheiere, simbolurile folosite pentru realizarea arborilor genealogici (fig. 35).

INTERACŢIUNEA EREDITATE—MEDIU

Există în genetica clasică numeroase exemple care demonstrează că mediul modelează fenotipul.

Iepurii de Himalayia crescuţi într-o temperatură obişnuită au blana albă, cu excepţia urechilor, a botului, a labelor şi a cozii, care sînt pigmentate. Aceiaşi iepuri crescuţi într-o cuşcă caldă au toată blana albă. Dacă temperatura scade, pigmentaţia se accentuează. Explicaţia fenomenului este bine cunoscută. Producţia de pigment, condiţionată genetic, este sensibilă la temperatură.

Temperatura ambiantă condiţionează şi numărul de omatidii la drosofilele Bar şi ultra-Bar. La drosofila sălbatică ochiul este format din 779 de omatidii. S-au descoperit însă drosofile care au o duplicaţie în tandem a primelor 5 benzi ale zonei 16 A de pe cromozomul X (mutaţia Bar). La aceste drosofile ochiul este format din 358 de omatidii, dacă mutaţia este în formă heterozigotă, şi din 68 de omatidii dacă mutaţia este în formă homozigotă. Excepţional de rar s-au observat şi forme ultra-Bar, cu o triplicare a aceloraşi benzi. În asemenea cazuri numărul de omatidii se reduce şi mai mult — 45 la heterozigoţi şi 25 la homozigoţi.

Dacă drosofilele Bar şi ultra-Bar sînt crescute într-un mediu a cărui temperatură depăşeşte 17°, fiecare creştere a temperaturii cu un grad reduce numărul de omatidii cu 20 la drosofilele Bar şi cu 5 la drosofilele ultra-Bar.

Tot la drosofilă mutaţia „abdomen anormal", care împiedică apariţia benzilor negre pe abdomen, nu se manifestă decît într-un mediu umed (Boquet, 1974).

Temperatura ambiantă influenţează dezvoltarea caracterelor somatice şi la mamifere. Coada scurtă a animalelor din regiunile cu climă rece este un răspuns la mediu. În condiţii experimentale coada şoarecilor crescuţi la o temperatură de

26,3°C are o lungime medie de 93,1 mm, în timp ce coada şoarecilor crescuţi la 6,2°C are numai 75,9 mm (Harrison, 1959).

Deci ereditatea fixează doar limitele în care se poate dezvolta un caracter. Realizarea lui depinde de mediu. Exemplul care urmează ilustrează pregnant această afirmaţie, una dintre dogmele geneticii.

Înălţimea speciei noastre variază în limite foarte largi. La o extremă sînt populaţiile de pigmei din pădurile ecuatoriale ale Zairului sau din insulele Andamane. Înălţimea lor medie este de 144 cm, cu variaţii individuale cuprinse între 126 şi 159 cm. La cealaltă extremă se găsesc nilotizii din Sudan. Înălţimea lor depăşeşte deseori 2 m — înălţimea medie este 185 cm, iar variaţiile individuale oscilează între 168 şi 205 cm. Înălţimea medie a populaţiilor europene este de aproximativ 170 cm.

Înălţimea este un caracter genetic, mai exact este un caracter condiţionat poligenic. Afirmaţia este sprijinită, printre altele, de faptul că în condiţii mezologice similare trăiesc populaţii cu înălţimi diferite. Astfel, în Rwanda şi Burundi trăiesc triburi cu înălţimi diferite: Tutsi au 176 cm, Hutu au 167 cm, iar Twa numai 155 cm, deşi între ele au avut loc numeroase încrucişări.

Ca toate caracterele poligenice, înălţimea finală reclamă condiţii particulare de mediu. După părerea lui Hiernaux, există o relaţie între temperatură, umiditatea ambiantă şi înălţime. Conform regulii lui Bergmann, înălţimea este mai mare în regiunile cu temperatură medie mai mică. În Europa, America şi China înălţimea creşte de la sud spre nord. La fel de importantă este şi umiditatea. În pădurile ecuatoriale africane trăiesc populaţii cu talie mică, uneori extremă, ca pigmeii Mbuti din Zair. Diminuarea masivă a înălţimii are o explicaţie fiziologică. Supravieţuirea în asemenea circumstanţe presupune menţinerea constantă a temperaturii corpului. Or ea nu se poate realiza decît dacă masa organismului este mică şi suprafaţa de evaporare mare. La Mbuti raportul masă/suprafaţă este foarte mic. Se pare că la baza acestui mecanism adaptativ stă o deficienţă parţială de hormon de creştere.

Numeroase date demonstrează că înălţimea a crescut substanţial în ultimul secol. Cele mai concludente informaţii le-a oferit Norvegia, unde înălţimea a început să fie înregistrată încă din 1760. Timp de 70 de ani, pînă în 1830, înălţimea recruţilor norvegieni nu s-a modificat. Ulterior a crescut, cu

1,5 cm pînă în 1875 şi cu alţi 4 cm pînă în 1935. În Belgia şi Olanda înălţimea a crescut cu 9 cm în 90 de ani, între 1870 şi 1960.

Un fenomen similar a avut loc în România. Înălţimea copiilor de acum este cu cîţiva centimetri mai mare decît cea a copiilor de acum trei decenii.

Înălţimea este un caracter de specie. Ca atare în momentul în care a fost atinsă media stabilită genetic creşterea încetează. Dovada a adus-o un studiu făcut asupra studenţilor de la Universitatea Harvard. În 1958 ei aveau aceeaşi înălţime pe care au avut-o şi studenţii intraţi în aceeaşi universitate în 1930. Conform ultimelor date ale antropologilor din S.U.A., înălţimea medie s-a oprit la 176 cm la bărbaţi şi la 171 cm la femeie. Probabil aceasta este media populaţiilor europene sau de origine europeană.

Explicaţia acestui fenomen nu este simplă. Probabil rolul cel mai important l-a avut mediul. Acolo unde condiţiile social-economice s-au ameliorat, înălţimea a crescut rapid, iar acolo unde mediul nu s-a modificat, ca în satele sud-sahariene, înălţimea a rămas neschimbată. O dovadă suplimentară o constituie şi vechea observaţie că înălţimea diminuează la copiii născuţi în timpul războiului sau în perioadele de foamete.

Creşterea înălţimii a fost favorizată şi de accentuarea heterozigoţiei populaţiilor umane, fenomen cunoscut sub numele de heterozis. Fenomenul a fost bine studiat în Tessin (Elveţia). Acolo s-a văzut că descendenţii uniunilor endogame erau cu 2 cm mai scunzi decît descendenţii căsătoriilor exogame. S-a studiat apoi înălţimea copiilor elveţienilor din aceeaşi regiune migraţi în California. S-a remarcat că înălţimea crescuse cu 2 cm printre copiii născuţi din uniuni endogame şi cu 3 cm printre copiii proveniţi din uniuni exogame. Acest fapt demonstrează, simultan, efectul ameliorării condiţiilor de mediu şi al heterozisului.

Paralel cu creşterea înălţimii a diminuat vîrsta menarhei (prima menstruaţie). În Norvegia, de pildă, menarha survenea acum un secol la 16 ani; în Anglia în 1820 apărea la 15,7 ani. În ambele ţări menarha se instalează acum la 13 ani. Rareori menarha apare ceva mai devreme — la 12,6 ani. După toate probabilităţile, odată cu atingerea acestei limite vîrsta medie de apariţie a primului ciclu menstrual nu va mai suferi nici un fel de modificări.

Ca şi înălţimea, vîrsta medie a menarhei este condiţionată de factori sociali şi economici. În secolul trecut exista o diferenţă de 2 ani între momentul cînd apărea menarha la fetele din clasele sociale favorizate şi momentul cînd apărea menarha la fetele din clasele sociale nefavorizate. În Europa, cel puţin, diferenţa a dispărut.

Rolul heterozisului este mai puţin clar. O cercetare făcută în Cuba a arătat că vîrsta menarhei este aceeaşi la fetele albe, negre şi metise. Dacă heterozisul ar fi avut un rol important atunci menarha ar fi apărut mai devreme la metise.

Interacţiunea ereditate—mediu este deosebit de clară şi în patologia genetică. Există un grup de tulburări care se manifestă în orice condiţii de mediu: anomaliile cromozomale şi cîteva erori de metabolism, cum ar fi boala Tay-Sachs. Deseori însă deficienţele enzimatice devin evidente numai în circumstanţe particulare. Galactozemia este o eroare de metabolism relativ rară, condiţionată de o deficienţă a galactozo-1-fosfat-uridil-transferazei, enzimă necesară metabolizării galactozei. Or galactoza sub forma lactozei este unul dintre constituenţii majori ai laptelui. De aceea copiii handicapaţi genetic hrăniţi cu lapte prezintă tulburări caracteristice, printre care şi o înapoiere mintală severă. Este însă suficient ca galactoza să fie eliminată din alimentaţie şi copilul se va dezvolta normal (tabelul 10).

Tabelul 10

Erori metabolice care se manifestă clinic doar în condiţii favorizante

Condiţia	Deficienţa enzimatică	Factor de mediu	Frecvenţa	Tulburări clinice
Fenilcetonurie	fenilalaninhidroxilaza	fenilalanina din alimentaţie	1:10 000	înapoiere mintală; tulburări neurologice
Intoleranţa ereditară la fructoză	aldolaza hepatică	fructoza, sucroza	foarte rară	tulburări digestive, hipotrofie staturală, înapoiere mintală
Favism	deficienţa G-6-P-D	*Vicia faba*, primaquină, sulfonamide	frecventă	anemie hemolitică

Există însă şi tulburări condiţionate aproape exclusiv de mediu, aşa cum sînt variola sau tifosul exantematic. Ele apar practic la toţi cei ce sînt expuşi suficient mediului nefavorabil.

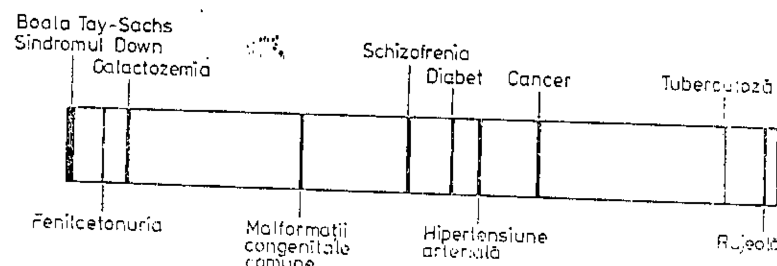
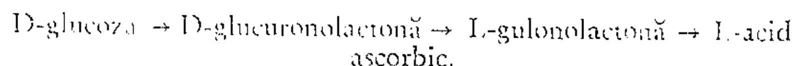


Fig. 36. Diagrama bolilor. La o extremă sînt tulburările condiționale preponderent genetic, iar la cealaltă tulburările condiționale îndeosebi de mediu.

Un exemplu deosebit de interesant îl constituie scorbutul. Specia *Homo*, ca și alte primate dealtminteri, a pierdut în cursul evoluției gena care controlează sinteza acidului ascorbic (vitamina C). O carență îndelungată duce astfel la apariția tulburării. Într-un anumit sens scorbutul este o eroare de metabolism pe care o au toți reprezentanții speciei noastre (Harris, 1975).

Scorbutul nu apare niciodată la speciile capabile să sintetizeze acid ascorbic, conform reacției:


D-glucoza → D-glucuronolactonă → L-gulonolactonă → L-acid ascorbic.

Între aceste două extreme se găsesc numeroase tulburări care apar la indivizii cu o anumită constelație genică în condiții favorabile de mediu (fig. 36).

Dar ce înseamnă constelație genică? Pînă de curînd nu aveam nici un răspuns cert. La începutul deceniului al șaselea s-a observat un exces de grupă sangvină A printre bolnavii cu cancer gastric. Se părea, astfel, că prezența unei anumite grupe sangvine favorizează apariția tumorilor maligne (Aird și colab., 1953). Descoperirea a generat o avalanșă de cercetări. După trecerea entuziasmului inițial a devenit sigur că există numai cîteva asociații semnificative statistic între grupele sangvine și boală: între grupa sangvină 0 și ulcerul duodenal și cea menționată mai înainte. S-au mai descoperit și alte asociații, dar ele sînt mai puțin sigure: între grupa sangvină A și anemia pernicioasă și între aceeași grupă sangvină și diabetul zaharat. Dar chiar în aceste cazuri nu există o explicație plauzibilă. Apoi riscul de a face boala de către indivizii cu grupa A și cei cu grupa 0 este doar de două ori

mai mare decît riscul populației generale. De aceea aceste sisteme polimorfice nu au fost niciodată folosite în medicina practică.

Este însă evident că susceptibilitatea față de anumite boli, care nu au o origine clar ereditară, implică un important coeficient genetic. El trebuia descoperit. Este sistemul HLA. Numele provine de la *H*uman (uman) sau, după alte păreri, de la *H*istocompatibility (histocompatibilitate), și *L*eucocyte (leucocit). *A* înseamnă că este primul sistem descoperit. Foarte des însă se presupune că HLA înseamnă Human Leucocytes Antigens = antigeni leucocitari umani.

Acest sistem condiționează transplantul de organe și țesuturi, la fel cum grupele sangvine AB0 condiționează transfuzia.

Sistemul HLA este controlat de un grup de gene situat pe cromozomul 6. Grupul cuprinde 4 loci — A, B, C și D, fiecare locus comportînd numeroase alele. Situația ultimului locus, D, este ceva mai complicată. Pe acest locus se găsesc gene care asigură sinteza unor determinanți specifici și gene care controlează sinteza unor determinanți descoperiți în limfocitele B, numiți HLA DR. Nu se știe prea mult despre aceste gene. Pînă în 1978 se cunoșteau 18 antigeni controlați de genele de pe locusul D. Este neîndoielnic că numărul alelelor este considerabil mai mare. Oricum, numărul combinațiilor genetice este imens — aproximativ 300 de milioane. Dintre acestea, 30 de milioane sînt identificabile. Ca atare, șansa de a găsi doi indivizi identici este extrem de mică. S-a și spus că structura sistemului HLA este la fel de personală ca dermatoglifele.

Sistemul HLA constituie a 3 000-a parte din genomul uman. Aceasta înseamnă că este format din cîteva sute dacă nu cumva din cîteva mii de gene, ținînd seama, evident, de redundanța ADN-ului. În aceeași regiune sînt incluse și alte gene care participă la realizarea răspunsului imun. Se pare că în aceeași zonă există și gene care controlează alte funcții ale membranei celulare, în afara răspunsului imun.

Antigenii HLA, A, B și C sînt glicoproteine prezente pe suprafața reticulocitelor, a hematiilor mature, a trombocitelor, a celulelor tisulare și, firește, a leucocitelor. Antigenii sînt formați dintr-un lanț ușor β_2 microglobulină — și un lanț greu care conferă specificitate moleculei. Primul este codificat de o genă situată pe cromozomul 15, iar ultimul, de genele prezente pe locii A, B și C.

Fiecare antigen este identificat printr-o literă, a locusului care îl controlează, și un număr care desemnează specificitatea locusului.

După toate probabilitățile, genele din regiunea HLA, cel puțin genele A, B și C, s-au format prin duplicația unei gene ancestrale.

Așa cum am menționat mai sus, acest sistem hotărăște succesul sau eșecul transplantelor. Dar el mai are încă o valoare: permite descoperirea indivizilor susceptibili de a face o anumită boală.

În 1967, Amiel a studiat frecvența sistemului HLA într-o serie de bolnavi cu limfomul Hodgkin (o tumoră malignă) și a remarcat o creștere a unor antigeni care mai tîrziu au fost cert identificați — un grup de antigeni de pe locusul HLA-B: B5, Bw35, B18 și B15. A urmat o perioadă de incertitudini. Apoi numeroase cercetări au demonstrat existența unor asociații certe între sistemul HLA și o serie de boli. Exemplul cel mai demonstrativ este spondilita anchilozantă. Este o boală a coloanei vertebrale, care interesează articulațiile sacroiliace, intervertebrale și costovertebrale și care duce în timp la o rigiditate a coloanei vertebrale, cu totul caracteristică. Boala este relativ rară: 0,1—0,2%. Concentrarea familială este însă de 4%. Datele familiale sugerează că tulburarea ar putea fi condiționată fie de o mutație dominantă autozomală cu penetranță incompletă, fie poligenic.

Cercetarea sistemului HLA a reliefat o concluzie neașteptată: 85—95% dintre bolnavi au antigenul B27, în populația generală frecvența aceluiași antigen fiind doar de 10% sau mai puțin, printre europeni sau în populațiile de origine europeană.

O creștere similară a antigenului B27 a fost găsită și printre bolnavii cu spondilită anchilozantă asociată cu alte două tulburări reumatice cronice — uveita acută și boala lui Reiter. Purtătorii acestui antigen au de 103,5 ori mai multe riscuri de a face spondilită anchilozantă decît purtătorii altor antigeni.

Diabetul zaharat este o tulburare a metabolismului caracterizată printr-o creștere a glucozei sangvine și printr-o diminuare mai mult sau mai puțin importantă a insulinei. Originea sindromului prezintă încă multe incertitudini. Numeroase cercetări clinice, familiale, gemelologice sugerează că diabetul poate fi determinat de factori de mediu — infecții

virale ale pancreasului — și de factori ereditari. Diabetul zaharat a fost clasificat în 4 tipuri:

Tipul 1 — diabet cu debut juvenil, insulino-dependent.
Tipul 2 — diabet cu debut tardiv, insulino-independent.
Tipul 3 — diabet asociat cu sindroame genetice.
Tipul 4 — diabet secundar.

Numai în tipul 1 există o asociație certă cu sistemul HLA. Riscul de a face diabet de tip juvenil este semnificativ mai mare printre indivizii care au antigenul Dw3 asociat cu antigenii A1, B8 sau B18, precum și printre indivizii care au antigenul Dw4 asociat cu A2, B15, B40 și Cw3. Există și alte asociații.

Informațiile cunoscute pînă acum sînt redate în tabelul 11.

Tabelul 11

Boli asociate cu sistemul HLA (după Bodmer și Bodmer, 1978)

Boala	Antigenul	Frecvența %		Riscul relativ
		Bolnavi	Control	
Maladia celiacă	Dw 3	96	27	64,5
	B 8	67	20	8,1
Hepatita cronică activă	DRw 3	41	17	3,4
	B 8	52	15	6,1
Miastenie gravă	DRw 3	32	17	2,3
	B 8	39	17	3,1
Boala lui Basedow	Dw 3	53	18	5,1
	B 8	44	18	3,6
Diabet cu debut timpuriu	DRw 3	27	17	1,8
	B 8	32	16	2,5
	DRw 4	39	15	3,6
Artrită reumatoidă	DRw 4	56	15	7,2
Scleroză multiplă	DRw 2	41	22	2,5
Spondilită anchilozantă	B 27	90	8	103,5
Maladia Reiter	B 27	80	9	40,4
Hemochromatoză	A 3	72	21	9,7
Psoriazis-albi	Cw 6	50	23	3,3
	B 13	23	5	5,7
	B 17	19	9	2,4
	B 37	5	2	2,6
Psoriazis-japonezi	Cw 6	53	7	15
	B 13	18	1	22
	B 37	35	2	26
	A 1	30	2	21

Interpretarea observațiilor nu este ușoară. Așa cum se observă din datele din tabelul 11, nici una dintre asociații nu

este absolută. Este adevărat că aproape toţi bolnavii cu spondilită anchilozantă au antigenul B27, dar numai o parte dintre purtătorii aceluiaşi antigen se îmbolnăvesc. De aceea tot ce se poate spune deocamdată este că un anumit antigen favorizează apariţia unei tulburări dacă se adaugă factori de mediu favorizanţi. De pildă, infecţiile sau erorile de metabolism ar favoriza dezvoltarea spondilitei anchilozante sau a diabetului zaharat.

Interacţiunea „teren-mediu" ar putea fi explicată de ipoteza mimării moleculare, ipoteză avansată de Ebringer şi col. (1978). Se presupune că antigenii HLA ar avea o structură antigenică similară cu cea a antigenilor unor agenţi infecţioşi. În ipoteza în care un individ cu un anumit antigen HLA face o infecţie specifică, sistemul lui imun este incapabil să recunoască bacteriile ca antigeni străini. Conform acestei sugestii, antigenul HLA-B27 şi unii bacili ar avea determinanţi comuni. În cazul în care un individ B27 face o infecţie cu asemenea bacili apar leziuni artritice şi spondilită. Ipoteza, interesantă, a fost primită cu rezerve. S-a susţinut că nu există nici o legătură demonstrabilă între agentul infecţios şi leziunile vertebrale.

Scleroza în plăci ar putea fi rezultatul unui mecanism similar. Scleroza în plăci este o boală severă caracterizată printr-o demielinizare progresivă şi lentă, o distrugere a substanţei care acoperă fibrele nervoase. Se crede că ar fi determinată de o infecţie virotică survenită pe un teren deficient imunologic. Deficienţa imunologică favorizează persistenţa virusurilor, îndeosebi a celui rujeolos în ţesuturile cerebrale şi paralel dezvoltarea unui proces autoimun. Dovadă, observaţia că mulţi dintre bolnavii cu scleroză în plăci au — pe lîngă unul dintre antigenii DRw2 sau mai rar A3, B7 — şi sistemul Ag descoperit de curînd, situat şi el tot pe cromozomul 6, lîngă locusul D.

Dar aceste asociaţii ar putea fi condiţionate de o serie sau de serii de gene care controlează răspunsul imun. Aceste gene sînt situate lîngă sistemul HLA şi ca atare sînt transmise împreună. Ipoteza a fost generată de studiul unor linii consangvine de şoarece. Nu se ştie însă dacă asemenea gene există şi la om.

O singură asociaţie are o explicaţie certă: asocierea dintre hiperplazia cortico-suprarenală prin deficienţa 21-hidroxilazei şi sistemul HLA. Asocierea este însă fortuită. Situl pentru gena 21-hidroxilază este apropiat de locusul HLA-D sau DR.

Deseori tulburările asociate cu sistemul HLA sînt eterogene — sînt condiţionate de factori diverşi. În asemenea circumstanţe apar subgrupe de bolnavi, fiecare dintre ele fiind asociată cu unul sau mai mulţi antigeni specifici.

În acelaşi timp începe să se observe şi fenomenul invers: purtătorii unui antigen sînt mai rezistenţi faţă de anumite boli. Antigenul B12 este rar printre bolnavii cu scleroză în plăci. Indivizii Dw2 asociat cu A3 şi B7 au un risc mai mic de a face diabet insulino-dependent.

Descoperirea sistemului HLA a adus o explicaţie nouă şi plauzibilă a actualei distribuţii geografice a spondilitei anchilozante. Ea este răspîndită îndeosebi în emisfera nordică. În emisfera sudică este rară. Distribuţia nu este întîmplătoare, ea se suprapune peste cea a antigenului B27, frecvent în Europa şi America de Nord şi rar printre negri.

Nu avem încă suficiente date pentru a caracteriza toate populaţiile lumii, dar nu este exclus ca o parte din ceea ce numim patologie geografică să fie expresia structurii antigenice diferite a populaţiilor.

Date preliminare sugerează că şi evoluţia bolilor este influenţată de sistemul HLA. Se pare, de pildă, că diabeticii B15 au un risc de 3—4 ori mai mic decît diabeticii care nu au acest antigen de a face retinită pigmentară.

Oarecum surprinzător este faptul că nu s-au găsit decît două asociaţii între sistemul HLA şi tumorile maligne: între antigenul BW 46 şi carcinomul naso-faringian şi între antigenul B40 şi carcinomul esofagian. Cele două tumori au o distribuţie geografică foarte bine definită. Prima apare frecvent doar la chinezi şi la populaţiile înrudite cu ei. Carcinomul esofagian apare la populaţiile de origine turco-mongolă.

Este tot ce se ştie.

Descoperirea sistemului HLA a deschis drumuri noi în genetica medicală. După părerea lui Dausset (1977), începem să înţelegem ceea ce vechii clinicieni numeau teren. Sensibilitatea faţă de anumite boli este o realitate care deseori se reduce la prezenţa sau absenţa unei singure gene. Pornind de aici se va putea institui o politică eficientă de profilaxie a multor tulburări.

Un nou exemplu va ilustra complexitatea interacţiunii ereditate-mediu.

Se ştie de foarte multă vreme că obezitatea implică un coeficient ereditar major. Numai aşa s-ar putea explica exis-

tenţa obezităţii de-a lungul mai multor generaţii ale aceleiaşi familii. Cercetările recente au dat un conţinut biochimic acestei supoziţii.

S-au studiat mai multe linii de şoareci şi de şobolani obezi. Obezitatea nu se dezvoltă însă decît dacă animalele sînt homozigote pentru o mutaţie recesivă specifică: ob/ob la şoareci şi fa/fa la şobolani. Aceste linii se disting biochimic prin hiperinsulinemie şi hiperlipemie şi printr-o creştere semnificativă a nivelului β-endorfinelor, polipeptide cu activitate de opiaceu produse de toate speciile de vertebrate. Substanţele sînt eliberate de hipofiză. Eliminarea hipofizei opreşte creşterea în greutate. Endorfinele acţionează asupra pancreasului stimulînd eliberarea insulinei. Probabil acţionează şi asupra receptorilor gastro-intestinali controlînd astfel şi comportamentul alimentar. În acest caz obezitatea apare practic în orice condiţii de mediu (Margulis şi col., 1978).

Cele mai multe obezităţi reclamă însă pe lîngă o dereglare biochimică ereditară şi condiţii de mediu favorabile.

PENETRANŢĂ ŞI EXPRESIVITATE

În mod obişnuit genele dominante se manifestă fenotipic la toţi purtătorii lor. Un individ cu gena pentru grupa sangvină A sau B are antigenul A sau B pe suprafaţa eritrocitelor. Genele care se manifestă constant fenotipic sînt gene penetrante. Se cunosc însă şi numeroase excepţii.

Într-o familie cu ectrodactilie (C. Maximilian şi colab., 1962), anomalia s-a transmis din generaţie în generaţie la 32 de indivizi. Aproape întotdeauna malformaţiile s-au transmis direct. Uneori însă bunicul a fost malformat, fiul lui a fost normal dar nepoţii au fost din nou afectaţi. Mutaţia cu transmitere dominantă autozomală a „sărit" o generaţie. Mutaţiile dominate care nu îşi manifestă efectele deşi sînt evident prezente sînt mutaţii cu penetranţă redusă. Deci penetranţa înseamnă totul sau nimic — mutaţia se manifestă sau nu (fig. 37).

Absenţa penetranţei este rareori observată în bolile cu transmitere recesivă autozomală.

În patologia umană se cunosc numeroase mutaţii cu penetranţă redusă. De pildă, osteogeneza imperfectă care se distinge printr-o fragilitate osoasă accentuată, prin sclere albastre şi prin surditate are o penetranţă de 90%.

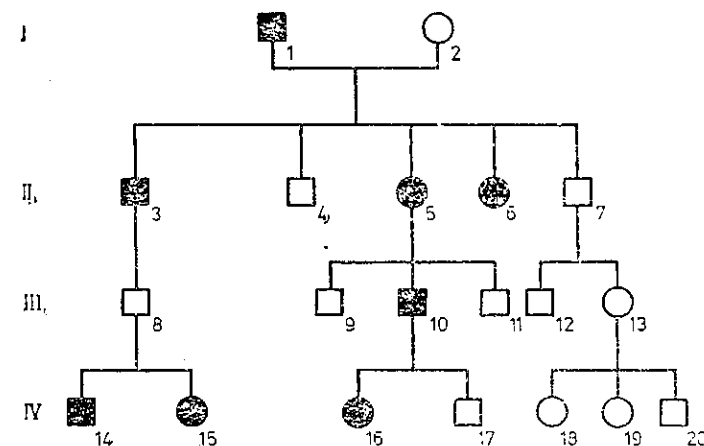


Fig. 37. Fragment din arborele genealogic al unei familii cu ectrodactilie. Bolnavul II 3 a avut un copil normal III 8 care a avut însă doi copii afectaţi: IV 14 şi IV 15.

În familia prezentată mai sus exista o mare variabilitate individuală. În timp ce la unii indivizi malformaţiile severe erau prezente şi la membrele superioare şi la cele inferioare, la alţi indivizi malformaţiile erau practic absente, apărînd o simplă fuziune a unor degete. Mutaţiile cu efecte fenotipice variabile se numesc mutaţii cu expresivitate variabilă (fig. 38). Expresivitatea reflectă severitatea fenomenelor clinice. Osteogeneza imperfectă, menţionată mai sus, este condiţionată de o mutaţie dominantă. Cu toate acestea, numai o parte dintre purtătorii mutaţiei prezintă triada caracteristică. Ceilalţi au doar surditate sau doar sclere albastre, eventual ambele tulburări, dar nu au fragilitate osoasă. Copiii lor pot avea însă toate manifestările caracteristice. Din acest exemplu, ca şi din cel precedent, rezultă că o genă nu se manifestă stereotip.

Nici penetranţa, nici expresivitatea nu au o explicaţie clară. Se presupune că manifestarea unei gene depinde de mediul genetic şi de factori externi. În sprijinul acestei supoziţii vine şi observaţia făcută de Renwick (1936). El a studiat o boală ereditară (sindromul unghie-rotulă) caracterizată prin malformaţii multiple ale sistemului osos: hipoplazia degetului mare, hipoplazia sau absenţa rotulei, a condilului femural lateral, a capului radiusului. Sindromul este

condiționat de o mutație dominantă autozomală. Renwick a remarcat că nu există nici o corelație între severitatea malformațiilor parentale și cele ale copiilor. Există însă o corelație între copiii afectați. Pentru a explica acest aspect el a pornit de la premisa că părinții și copiii nu au aceeași alelă normală pe locusul pentru sindromul unghie-rotulă. Un copil afectat a primit cromozomul cu alela mutantă de la unul dintre părinți — de la părintele afectat — și cromozomul cu alela normală de la părintele indemn. Alela normală este cea care influențează manifestările clinice ale mutației. În spiritul acestei ipoteze, variabilitatea expresiei unei gene nu este o consecință a activității mutației însăși, ci a alelei sale.

Nici diminuarea penetranței nu poate fi un efect al mutației. Probabil și ea este influențată de alela normală.

S-ar putea însă ca penetranța redusă și expresivitatea variabilă să fie condiționate de gene particulare, modificatoare, binecunoscute din genetica experimentală. Iar incapacitatea unei gene de a se manifesta fenotipic ar putea fi consecința unei gene supresor.

FENOCOPIILE

În deceniul al patrulea al acestui secol, Richard Goldschmidt a reușit să producă la drosofile mai multe deviații fenotipice. Pentru obținerea lor a folosit șocul cu căldură aplicat în diferite stadii ale dezvoltării. Anomaliile imitau însă anomalii similare condiționate genetic. Ele au fost denumite fenocopii și au fost definite astfel: „alterații ale manifestării unui genotip produse de mediu care copiază tipul de manifestare al altui genotip" (Hadorn, 1961).

În cursul anilor au fost observate numeroase fenocopii și în genetica umană. Astfel, microcefalia poate fi expresia unei mutații recesive în formă homozigotă, dar poate fi la fel de bine consecința iradierii embrionului sau a unei infecții rubeolice intrauterine.

Retinoblastoma este o tumoră a retinei. Apare frecvent în copilărie, în 25% dintre cazuri bilateral și în 75% dintre cazuri unilateral. Tratamentul chirurgical a permis multor copii să supraviețuiască și să se reproducă. Studiul genealogic a dus la concluzia că tumora este condiționată de o mutație dominantă autozomală. Marea majoritate a cazurilor

sînt însă sporadice. Ele ar fi expresia unor noi mutații sau ar fi fenocopii. Se presupune că tumorile bilaterale sînt întotdeauna genetice iar cele unilaterale ar fi în 80% dintre cazuri fenocopii. Nu există nici o posibilitate de a diferenția cele două forme.

Exemplul cel mai cunoscut rămîne focomelia. Această malformație gravă a extremităților este condiționată uneori de o mutație recesivă autozomală sau, alteori, de o mutație dominantă autozomală. Ea poate fi indusă și de talidomidă (vezi profilaxia malformațiilor congenitale).

Fenocopiile sînt tranzitorii sau permanente. Astfel, methemoglobinemiile sînt tulburări ereditare transmise recesiv autozomal (sînt rezultatul înlocuirii unei părți din hemoglobină, 20—50%, cu methemoglobină, un derivat oxidat al hemoglobinei incapabil să mai lege oxigenul). Methemoglobinemia poate să apară însă și după administrarea unor medicamente sau, la copil, după folosirea laptelui praf dizolvat cu o apă poluată. Tulburarea dispare curînd după întreruperea tratamentului.

GEMELOLOGIA

Gemelaritatea constituie un fenomen obișnuit în toate populațiile umane.

Se deosebesc două tipuri de gemeni: monozigoți (MZ) și dizigoți (DZ) (fraterneli). Primii sînt rezultatul diviziunii unui singur ou fecundat. Diviziunea are loc curînd după fecundare. Deoarece gemenii provin dintr-un singur zigot au aceeași structură genetică. Sînt două copii ale aceluiași exemplar.

Gemenii dizigoți sînt expresia fecundării mai mult sau mai puțin simultane a două ovule de către doi spermatozoizi. Ei pot avea același sex sau pot avea sexe diferite. Sînt, cu alte cuvinte, frați și surori obișnuiți născuți în același timp.

Un tip particular și probabil excepțional de rar îl constituie himerele, organisme ale căror țesuturi și organe sînt formate din celule cu o dublă origine genetică. Ele se formează printr-unul din următoarele mecanisme:

— dublă fecundare: fecundarea independentă a unui ovul și a celui de-al doilea corpuscul polar. După un număr de diviziuni cei doi embrioni fuzionează;

— fuzionarea a doi embrioni;

— fecundarea a doi produşi mitotici ai unui singur ovul;
— fecundarea unui ovul binucleat;
— fecundarea a două ovule de către doi spermatozoizi.

S-a descris şi un himerism parţial la gemenii dizigoţi. În timpul vieţii intrauterine celulele sangvine primordiale ale unuia dintre gemeni colonizează măduva osoasă a celuilalt geamăn. Uneori, numai unul dintre gemeni manifestă himerism, alteori ambii. În aceste cazuri în sînge se întîlnesc două populaţii celulare: 46,XX şi 46,XY, de pildă.

Un tip cu totul neobişnuit de gemeni îl formează gemenii monozigoţi heterocarion (cu cariotip diferit). După formarea zigotului într-unul din blastomere a avut loc o segregare anormală a cromozomilor, urmată de diviziunea embrionului. În acest fel se nasc doi copii citogenetic diferiţi — unul normal şi unul anormal —, unul 46,XX şi celălalt 45,X sau 47,XX,+21. Asemenea gemeni au fost descrişi de mai multe ori în genetica umană.

Aproximativ 1% dintre toate sarcinile sînt gemelare. Există însă şi diferenţe geografice mai mult sau mai puţin importante. Astfel, în Finlanda la fiecare 65 de sarcini una este gemelară iar în Japonia una la 150 de sarcini. Conform legii lui Hellin, la fiecare 87 de sarcini simple una este dublă; la fiecare 87 de sarcini duble una este triplă (conţine tripleţi) iar la fiecare 87 de sarcini triple una este cvadruplă (conţine cvadrupleţi).

Din totalul gemenilor, aproximativ 70% sînt dizigoţi; jumătate dintre ei au acelaşi sex iar cealaltă jumătate au sexe diferite. Numai 30% sînt, aşadar, monozigoţi. Dacă se studiază frecvenţa celor două tipuri de gemeni în diverse populaţii se observă că frecvenţa gemenilor monozigoţi nu variază de la o populaţie la alta, în timp ce cea a gemenilor dizigoţi diferă.

Se ştie puţin despre factorii care favorizează gemelaritatea. Astfel, s-a observat de mult existenţa unei concentraţii familiale a gemenilor dizigoţi. Fenomenul a fost atribuit unui factor genetic. Se pare că ceea ce se moşteneşte este predispoziţia la dublă ovulaţie. S-a remarcat apoi existenţa unei relaţii între vîrsta mamei şi frecvenţa aceluiaşi tip de gemeni (fig. 39).

Orice cercetare gemelologică implică determinarea exactă a tipului de zigoziţie. Zigoziţia poate fi determinată în două feluri: studiind membranele fetale; studiind asemănările şi deosebirile dintre gemeni.

Tabelul 12

Incidenţa naşterilor gemelare la 10 000 de naşteri
(după Propping şi Krüger, 1976)

Ţara	Perioada	DZ/10 000 naşteri	MZ/10 000 naşteri
Spania	1951—1953	59	32
Portugalia	1955—1956	56	36
Franţa	1946—1951	71	37
Austria	1952—1956	75	34
Elveţia	1943—1948	81	36
R. F. Germania	1950—1955	82	33
Suedia	1946—1955	86	32
Italia	1949—1955	86	37
Anglia şi Ţara Galilor	1946—1955	89	36
S.U.A.-albi	?	67	39
S.U.A.-negri	1905—1959	110	39
S.U.A.-chinezi	?	22	48
S.U.A.-japonezi	?	21	46
Japonezi	1955—1962	24	40

Fătul este învelit de două membrane, una internă (amnion) şi una externă (corion). Gemenii dizigoţi au membrane complet separate. Dar dacă cele două membrane sînt apropiate ele pot fuziona semănînd cu o placentă monocorionică.

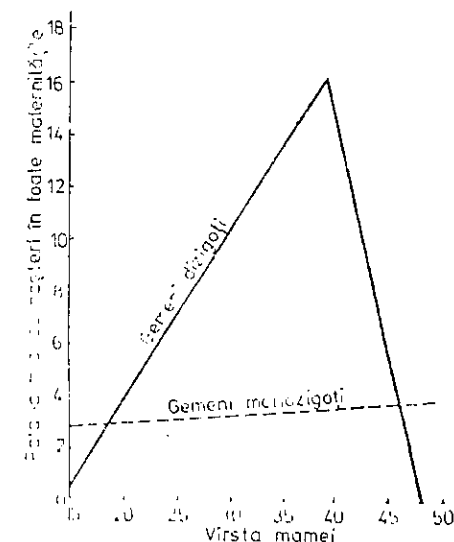


Fig. 39. Frecvenţa naşterilor gemelare în funcţie de vîrsta mamei în Marea Britanie şi Ţara Galilor în 1951—1956 (după Carter, 1965).

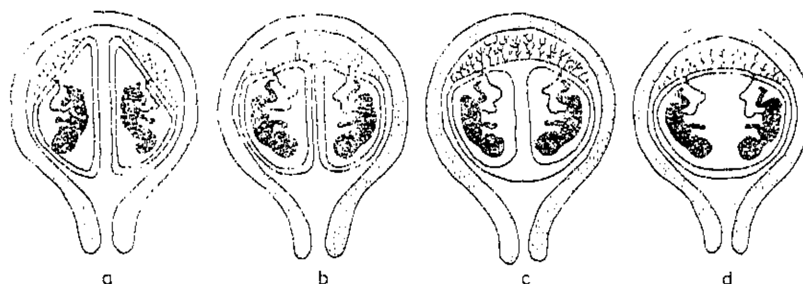


Fig. 40. Tipurile de placentaţie: a = gemeni monozigoţi sau dizigoţi cu amnion, corion şi placentă separate; b = gemeni monozigoţi sau dizigoţi cu amnion şi corion separate, dar cu placentă comună; c = gemeni monozigoţi cu amnion separat, dar cu corion şi placentă comune; d = gemeni monozigoţi cu amnion, corion şi placentă comune (după Potter, 1948).

Gemenii monozigoţi pot fi monocorionici sau dicorionici. Diagnosticul de monozigoţie este cert doar în ipoteza în care gemenii au un singur corion. Dar aşa se observă doar la 70% dintre monozigoţi. Diversele tipuri de placentaţie sînt prezentate în ilustraţia din fig. 40. Cele 4 tipuri de placente nu sînt la fel de frecvente.

Tabelul 13

Frecvenţa celor patru tipuri de placente
(după Potter, 1963)

Tipul de placentă	Nr. cazuri	Acelaşi sex
1) Placente separate, dicorionice, diamniotice (MZ, DZ).	239	141
2) Placente dicorionice, diamniotice, fuzionate (MZ, DZ).	192	113
3) Placente diamniotice, monocorionice (MZ).	117	117
4) Placente monoamniotice, monocorionice (MZ).	1	1

De cele mai multe ori diagnosticul de zigoţie este pus după naştere, prin examinarea unui număr cît mai mare de caractere. Cele mai sigure sînt cele condiţionate de o singură genă: grupele sangvine, enzimele, proteinele serice... Pot fi folosite şi caracterele cantitative — dermatoglifele, pigmentaţia, înălţimea —, dar valoarea lor este relativ redusă. Cea mai concludentă dovadă, rareori folosită însă, este transplantul reciproc de piele. Grefa va fi acceptată de gemenii monozigoţi şi respinsă de gemenii dizigoţi.

Trebuie subliniat însă că, indiferent de complexitatea testelor utilizate, nu se poate stabili cu certitudine monozigoţia (cel puţin cu mijloacele actuale). Nu este exclus ca cei doi gemeni să fie concordanţi pentru toate caracterele studiate şi totuşi ei să fie dizigoţi.

Studiul gemenilor în genetica medicală. De foarte multă vreme genetica medicală încearcă să definească rolul eredităţii şi al mediului în geneza caracterelor normale şi patologice. În lipsa altor metode mai concludente, ea a folosit şi continuă să folosească gemenii.

Studiul gemenilor pleacă de la următoarele premise:

— dacă un caracter oarecare este condiţionat genetic el va fi prezent la toţi sau aproape toţi gemenii monozigoţi şi va fi mai rar la gemenii dizigoţi, la fel de rar ca la fraţii şi surorile obişnuite;

— dacă un caracter oarecare este condiţionat şi genetic şi mezologic el va apărea ceva mai rar la gemenii monozigoţi decît la cei dizigoţi;

— dacă un caracter specific este condiţionat îndeosebi de mediu, el va fi observat la fel de frecvent şi printre gemenii monozigoţi şi printre cei dizigoţi.

Datorită gemenilor s-a stabilit că ereditatea joacă un rol deosebit de important în dezvoltarea unor caractere cantitative. S-a remarcat, de pildă, că 89% dintre gemenii monozigoţi şi 22% dintre cei dizigoţi au aceeaşi culoare a părului. Gemenii monozigoţi au practic întotdeauna aceeaşi pigmentaţie a irisului, în timp ce gemenii dizigoţi sînt concordanţi mult mai rar (28%).

Şi concordanţa tensiunii arteriale, care pare condiţionată poligenic, este semnificativ mai mare la monozigoţi (63%) decît la dizigoţi (23%).

Tot ereditatea intervine şi în apariţia malformaţiilor congenitale comune — luxaţia congenitală de şold, piciorul strîmb congenital şi mai puţin în geneza malformaţiilor congenitale de cord. Iată cîteva date (tabelul 14).

Studiul gemenilor a arătat, de asemenea, că ereditatea intervine şi în apariţia psihozelor, a diabetului zaharat şi chiar a unor boli infecţioase.

Tabelul 14

Concordanța unor malformații congenitale comune la gemenii monozigoți și dizigoți
(după Carter, 1964)

Tipul de malformație	Monozigoți	Dizigoți
Luxația congenitală de șold	40 %	3 %
Buza de iepure	40 %	5 %
Piciorul strîmb congenital	35 %	3 %
Malformațiile congenitale de cord	5 %	5 %

Tabelul 15

Concordanța gemenilor monozigoți și dizigoți în tulburări de origine mezologică sau mixtă (din surse diverse)

Tulburarea	Monozigoți %	Dizigoți %
Schizofrenie	23—67	6—18
Rujeolă	94,7	94,3
Varicelă	92,8	89,2
Oreion	88,4	72,1
Scarlatină	54,6	47,1
Difterie	50,0	37,4
Pneumonie	32,3	18,2
Gușă endemică	70,0	71,0
Diabet zaharat	58,0	13,0
Tireotoxicoză	47,0	3,0
Astm bronșic	63,0	38,0
Artroză reumatismală	50,0	5,0
Silicoză	89,0	55,0

Din prezentarea acestor date se desprind cîteva concluzii:
— ereditatea intervine în apariția unor malformații congenitale comune;
— ereditatea favorizează dezvoltarea unor tulburări determinate de mediu, ca silicoza;
— ereditatea are un rol inegal în apariția infecțiilor: pare să favorizeze apariția tuberculozei, dar nu și apariția rujeolei, varicelei sau oreionului.

Alte cercetări au demonstrat că ereditatea nu are un rol important în dezvoltarea cancerului. Rata de concordanță a tumorilor maligne este similară la cele două feluri de gemeni.

Deosebit de importante au fost concluziile cercetărilor efectuate printre gemenii monozigoți crescuți în condiții de mediu deosebite. Din diverse rațiuni (dispariția părinților, boala unuia dintre părinți), gemenii monozigoți au fost despărțiți și crescuți în condiții de mediu diferite. Dacă și în asemenea condiții rata de concordanță este mai mare printre monozigoți, atunci se poate admite că elementul studiat este condiționat genetic. În acest fel s-a ajuns la concluzia că înălțimea, greutatea și inteligența implică un coeficient genetic important. De pildă, Erlenmeyer-Kimling și Jarvik (1963) au făcut o sinteză asupra cercetărilor consacrate geneticii inteligenței. Ei au remarcat că valoarea corelației familiale este aproximativ aceeași: 0,50 între părinți-copii, frați-surori și gemenii dizigoți. Ajunge la 0,87 între gemenii monozigoți crescuți în același mediu și scade puțin — 0,75 — între gemenii monozigoți crescuți în medii diferite.

Gemelologia a adus o serie de concluzii interesante, dar cu valoare limitată. Ea a sugerat că numeroase tulburări sînt condiționate îndeosebi de mediu sau că numeroase anomalii sînt condiționate preponderent genetic, dar nu a precizat dacă participarea înseamnă una sau mai multe gene. Firește nu poate spune nimic despre acțiunea genelor.

Apoi valoarea concluziilor este redusă de o serie de factori care nu pot fi eliminați. Astfel, se presupune că circumstanțele mezologice sînt aceleași pentru ambele tipuri de gemeni. În fapt, este greu de demonstrat o asemenea presupunere. Oricum, un factor mezologic prenatal poate duce la apariția aceluiași caracter. Caracterul va fi considerat genetic, deși el este condiționat mezologic. Apoi gemenii monozigoți au tendința de a fi mereu împreună și deci de a suferi influențe de mediu similare. Și mediul marchează îndeosebi caracterele psihice.

În general, se poate spune că gemelologia a dat tot ce putea da. Marile necunoscute ale geneticii vor fi rezolvate pe alte căi și cu alte mijloace.

MUTAȚIA

Prin mutație se înțelege o alterare a mesajului genetic. După nivelul la care a survenit accidentul s-au deosebit trei feluri de mutații: genice; cromozomale; genomice.

Mutațiile genice joacă un rol de maximă importanță în patologia umană. Există patru tipuri de mutații genice.

SUBSTITUȚIA

Se înțelege prin substituție înlocuirea unei baze cu altă bază în lanțul de ADN. Substituțiile sînt de două feluri: tranziție — înlocuirea unei purine cu altă purină sau a unei pirimidine cu altă pirimidină — și transversie — înlocuirea unei purine cu o pirimidină. Frecvența lor este inegală. După datele lui Vogel (1972), care a studiat frecvența transversiilor și tranzițiilor în hemoglobinele anormale umane, primele apar mult mai des decît ultimele.

În urma unei substituiri rezultă două feluri de codoni: unii sînt similari celor trei codoni non-sens și mutațiile se numesc non-sens; alții codifică alt aminoacid, mutațiile avînd sens fals.

Mutațiile prin substituție sînt relativ frecvente. Se pare că prin acest mecanism s-au format cele mai multe dintre mutațiile întîlnite în biologia și medicina umană. Exemplul cel mai concludent îl constituie hemoglobinele anormale.

Hemoglobina adultului este constituită din două fracțiuni: Hb A_1, care reprezintă 97% din totalul hemoglobinei, și Hb A_2, care formează 2,5% din totalul hemoglobinei. Hb A_1 este constituită din patru lanțuri polipeptidice: două lanțuri identice alfa, compuse fiecare din 141 de aminoacizi și două lanțuri identice beta, formate fiecare din 146 de

aminoacizi. Secvența aminoacizilor celor două tipuri de lanțuri este cunoscută. Ca și alte proteine, fiecare lanț de hemoglobină are un grup prostetic numit hem (există deci patru hemuri). Hb A_2 este formată din două lanțuri α și două lanțuri δ.

La începutul vieții embrionare există trei tipuri de hemoglobină deosebite de cea a adultului. Prima, Hb Gowers 2, este constituită din două lanțuri α și două ε ($\alpha_2 \varepsilon_2$), a doua, Hb Gowers 1, este formată din două lanțuri ζ și două ε ($\zeta_2 \varepsilon_2$), iar cea de-a treia, Hb Potland, din două lanțuri ζ și două lanțuri γ ($\zeta_2 \gamma_2$).

În luna a doua apare hemoglobina fetală formată din două lanțuri α și două lanțuri γ ($\alpha_2 \gamma_2$). Ea constituie 90% din totalul hemoglobinei din această perioadă. În luna următoare dispar lanțurile ε și tot atunci începe sinteza Hb A_1. După alte trei luni, Hb F este înlocuită lent cu Hb A_1 și Hb A_2, în așa fel încît la naștere 50—80% din hemoglobină este formată din Hb F. În luna a șasea copilul are aceleași proporții de hemoglobină ca și adultul: Hb A_1 = =97%; Hb A_2 = 2—3%; Hb F = 0,6%.

Se știe destul de mult despre controlul genetic al lanțurilor hemoglobinei. Lanțurile α sînt condiționate de două perechi de gene alele situate probabil pe cromozomul 16. Pe un locus non-alfa, situat probabil pe cromozomul 11, sînt grupate genele structurale ale lanțurilor γ: două sau eventual trei gene alele pentru Aγ și Gγ și probabil pentru Tγ, două alele pentru lanțurile δ și două alele pentru lanțurile β. Despre genele ζ și ε nu se știe nimic.

Este certă existența a două tipuri de lanțuri γ. Ele diferă prin natura aminoacidului din poziția 136-alanină în tipul Aγ și glicină în tipul Gγ. În cel de-al treilea tip — tipul Tγ, încă ipotetic, ar exista treonină în poziția 75.

Se presupune că ordinea genelor pe locusul non-alfa ar fi următoarea: Gγ, Aγ, δ și β.

Se pare astfel că cel puțin opt gene structurale, pe celula haploidă, ar controla sinteza hemoglobinei.

Există, de asemenea, numeroase informații despre controlul sintezei lanțurilor globinice. Reglarea are loc în fiecare etapă a sintezei proteice:

— reglare transcripțională: la acest nivel se realizează înlocuirea hemoglobinei F cu hemoglobina A;

— reglare posttranscripțională: în citoplasmă are loc maturarea ARNm din ARN-ul nuclear. Se pare că acest fenomen are drept scop asigurarea specificității mesajului;

— reglare traducțională: la acest nivel are loc reglarea majoră a sintezei;

— reglare posttransducțională: se realizează printr-un mecanism de *feed-back* clasic: lanțurile α inhibă sinteza lanțurilor β și invers.

După aceste date vom reveni la substituție. În urma unui asemenea eveniment se modifică și secvența aminoacizilor globinei: în locul unui aminoacid va fi inserat altul. Exemplul cel mai cunoscut rămîne Hb S.

Se știe de foarte multă vreme că hematiile unor indivizi, deseori aparent normali, își schimbă forma cînd presiunea de oxigen scade. Ele se alungesc și iau forma unei secere (*sickling phenomenon* — engl. *sickle* = seceră). Particularitatea este ereditară. Din uniunea indivizilor care manifestă în condiții particulare fenomenul de *sickling* rezultă copii cu o anemie gravă, frecvent letală. Neel (1949), analizînd un mare număr de familii cu unul sau mai mulți copii afectați, a conchis că indivizii care prezintă fenomenul de *sickling* sînt heterozigoți pentru o mutație care în formă homozigotă condiționează apariția anemiei cu celule falciforme — în formă de seceră.

Ulterior s-a demonstrat că heterozigoții au două feluri de hemoglobină: Hb A și Hb S (hemoglobina *sickle-cell* = hemoglobina celulelor în formă de seceră). Deci cele două feluri de hemoglobină trebuie să fie structural deosebite. Ingram (1957, 1959) a arătat că diferențele sînt minime: un singur aminoacid, acidul glutamic de pe lanțul β, a fost înlocuit cu valină. Iată secvența primilor aminoacizi:

Hb A -Val-His-Leu-Thr-Pro-*Glu*-Glu-Lis-

Hb S -Val-His-Leu-Thr-Pro-*Val*-Glu-Lis-

Cu excepția acestei substituții nu mai există nici o deosebire între Hb A și Hb S.

După descoperirea Hb S s-au descoperit cel puțin alte 300 de hemoglobine anormale, toate fiind consecința înlocuirii unui singur aminoacid. Substituirile au loc fie în lanțul α, fie în lanțul β, în poziții diferite. Se cunoaște o excepție importantă — Hb C. Ea este rezultatul înlocuirii glutaminei din poziția 6 a lanțului β cu lizină (Hb S se caracte-

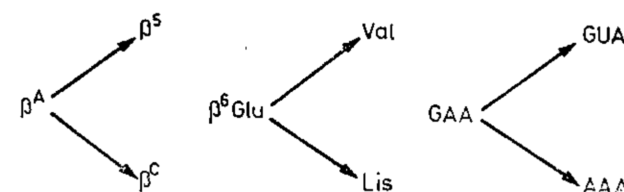


Fig. 41. Relația dintre substituția aminoacizilor și substituția bazelor în codonii pentru poziția beta 6.

rizează prin prezența valinei în aceeași poziție și în același lanț).

Pornind de la structura hemoglobinei se poate reconstitui evenimentul genetic primar.

Acidul glutamic este codificat de tripletul GAA sau GAG, iar lizina de codonul AAA sau AAG. Așa încît este suficient ca o singură bază să fie înlocuită — G din GAA sau din GAG — și locul unui aminoacid va fi luat de altul (fig. 41). Deși hemoglobinele rezultate prin substituție se deosebesc una de alta printr-o modificare aparent minoră, efectele lor clinice sînt extrem de variate. Dacă substituția nu alterează integritatea funcțională a moleculei, consecințele mutației sînt minime sau absente. La cealaltă extremă sînt hemoglobinele cu consecințe grave. În aceste cazuri substituția are loc în zonele de contact dintre lanțurile polipeptidice sau dintre lanțurile polipeptidice și grupele hem, adică în puncte critice pentru menținerea integrității moleculei.

În această categorie intră hemoglobinele M, hemoglobine caracterizate prin prezența unei mari cantități de methemoglobină, pigment sangvin în care fierul este oxidat în stare ferică. De aceea fierul nu se mai combină cu oxigenul. În mod normal methemoglobina se găsește în cantitate mică, nivelul ei fiind controlat de enzime specifice eritrocitare. Ori de cîte ori concentrația crește excesiv, fie sub acțiunea unor substanțe chimice, fie prin diminuarea nivelului enzimelor reductoare, apar tulburări clinice majore.

Dar, așa cum s-a menționat mai înainte, aceeași tulburare poate fi condiționată de o mutație genică ce antrenează o alterare structurală fie a lanțului α, fie a lanțului β. Leziunea se găsește întotdeauna în apropierea hemului. Hemul este situat într-o pungă a fiecărui lanț polipeptidic între anumite elice. Atomul de fier al hemului se leagă cu grupele imidazol ale reziduurilor 58 și 87 ale lanțului α și cu cele

din pozițiile 63 și 92 ale lanțului β. În aceste poziții se găsește histidina. Dacă ea este înlocuită cu tirozină, atunci atomul de fier rămîne oxidat și nu mai este sensibil la acțiunea reductazei methemoglobinei. În acest fel se formează mai multe tipuri de Hb M.

Substituții în lanțul α

A	58		87
α	his	hem	his
M Boston	58		87
α	tir	hem	his
M Iwate	58	hem	87
α	his	hem	tir

Substituții în lanțul β

A	63		92
β	his	hem	his
M Saskaton	63		92
β	tir	hem	his
M Hyde Park	63		92
β	his	hem	tir

În cazul hemoglobinelor anormale, majoritatea substituțiilor survin în lanțul β (144). În lanțul α au fost descoperite 92 de variante. Relativ rar apar înlocuiri în lanțul δ (6) și γ (8) (Neel, 1976).

Substituția poate avea drept urmare transformarea unui codon obișnuit într-un codon non-sens. Ca atare, sinteza lanțului se oprește prematur. Așa se pare că s-a format Hb Mc Kees Rock: o hemoglobină anormală al cărei lanț β are doi aminoacizi terminali lipsă — 145 tirozina și 146 histidina. În această variantă codonul pentru tirozină UA (U sau C) a devenit un codon non-sens UAA sau UAG.

În exemplele date mai sus era vorba despre proteine neenzimatice. Numeroase boli ereditare sînt consecința unei deficiențe enzimatice. S-a presupus că și ele ar fi expresia unei mutații genice care antrenează substituirea unui aminoacid. Deși ipoteza este plauzibilă, ea a fost confirmată doar în puține cazuri. De pildă, s-a conchis că una dintre variantele glucozo-6-fosfat-dehidrogenazei, varianta normală întîlnită la 30% dintre negri, rezultă din înlocuirea unei asparagine cu acid aspartic. În altă variantă, Hektoen, histidina a fost înlocuită cu tirozină. În general, deoarece enzima lipsește sau are o activitate foarte redusă, este extrem de dificil să se stabilească natura anomaliei. Structura variantei Hektoen a putut fi stabilită, deoarece în urma mutației genice producția enzimei crește de patru ori.

O mutație punctiformă poate avea astfel consecințe diametral opuse.

Mutațiile punctiforme sînt mult mai numeroase decît s-a presupus pînă acum. Dar 20—25% nu au nici un efect clinic, deoarece datorită degenerării codului genetic, noul triplet poate codifica același aminoacid. Dintre celelalte, 70—75% nu alterează structura biochimică a proteinei — acestea sînt mutații neutre. Numai o mică minoritate are consecințe negative.

CROSSING-OVER-UL INEGAL

Hemoglobinele Lepore, după numele familiei în care au fost descoperite, au o structură cu totul neobișnuită. Lanțurile α sînt normale, dar celelalte două au o succesiune de aminoacizi hibridă: prima parte corespunde secvenței aminoacizilor din lanțul δ iar ultima parte, secvenței aminoacizilor lanțurilor β. Numărul total de aminoacizi rămîne neschimbat — 146. Trecerea de la lanțurile δ la lanțurile β variază de la un tip de hemoglobină la altul. De pildă, în Hb Lepore Washington sau Boston trecerea are loc între pozițiile 87 și 116.

S-a stabilit că locii care condiționează lanțurile δ și β sînt situați în același cromozom, foarte aproape unul de altul. Această poziție explică apariția hemoglobinelor Lepore.

În timpul meiozei, cromatidele cromozomilor omologi se împerechează. Sinapsa este un proces extrem de exact, așa încît *cross-over*-ul, cînd are loc, păstrează intactă succesiunea genelor. Împerecherea inexactă se realizează îndeosebi în regiunile în care există o duplicație a ADN-ului. Acest accident se numește *cross-over* inegal. În imaginea din fig. 42 este ilustrat mecanismul apariției hemoglobinelor Lepore.

Așa cum se vede, în urma *cross-over*-ului au rezultat doi cromozomi anormali, unul scurt care conține o parte din locusul δ și o parte din locusul β și un cromozom lung care include un segment suplimentar — βδ.

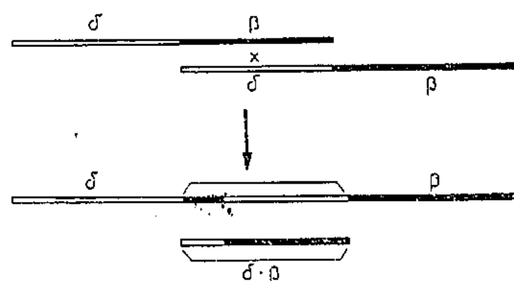


Fig. 42. Mecanismul de apariție a hemoglobinelor Lepore. Semnul x indică locul *crossing-over*-ului (după Harris, 1975).

Teoretic vorbind, în funcție de tipul de *cross-over* pot rezulta lanțuri anormale care au prima parte similară lanțului β și ultima parte similară lanțului δ. Asemenea hemoglobine au fost descoperite și au fost numite anti-Lepore.

La fel de interesante sînt hemoglobinele Kenya și anti-Kenya. Ca și în exemplul precedent, *cross-over*-ul are loc între gene nealele. În urma acestui eveniment într-una din cromatide apare o deleție (Hb Kenya) iar în cealaltă o amplificare (Hb anti-Kenya). Lanțul non-alfa Kenya este constituit dintr-un segment γ — primii 80 de aminoacizi —, urmat de o secvență β — aminoacizii 87—146. Se poate presupune astfel că *cross-over*-ul inegal a apărut între codonii care controlează aminoacizii 81—86.

DELEȚIA

Prin deleție se înțelege pierderea de material genetic. Mutația odată apărută se transmite generațiilor următoare. În mod obișnuit delețiile sînt consecința unor rupturi cromatidiene sau cromozomale sau a unui *cross-over* inegal. Pierderea de material genetic se poate limita la cîțiva codoni, deci la o parte dintr-o genă, sau la cîteva gene.

În urma deleției va rezulta un lanț polipeptidic anormal. Intensitatea restructurării depinde de lungimea secvenței de baze implicate și de numărul de baze pierdute. Există deci două posibilități: sau se pierde o secvență formată din trei baze ori un multiplu de trei, sau, a doua eventualitate, se pierde alt număr mai mare sau mai mic decît trei, ori

un multiplu de trei. În prima ipoteză din lanțul polipeptidic vor fi absenți aminoacizii codificați de codonii pierduți. Succesiunea aminoacizilor va rămîne însă normală proximal și distal de secvențele pierdute. În a doua ipoteză consecințele sînt mult mai importante. Deoarece fiecare codon este alcătuit din trei baze, pierderea uneia sau mai multor baze va duce la o nouă așezare a bazelor, deci la un nou cod genetic. Polipeptidul sintetizat va fi astfel format din două părți: una normală, sintetizată de succesiunea de baze intactă situată proximal față de segmentul pierdut, și una anormală, controlată de noua secvență de baze. În general, proteinele sintetizate sînt inactive — dacă sinteza are totuși loc. Așa se explică de ce numărul delețiilor genice cunoscut în patologia umană este foarte mic.

S-au descris mai multe hemoglobine anormale condiționate de asemenea accidente. De pildă, în hemoglobina Freiburg lipsește un singur aminoacid din lanțul polipeptidic β: valina din poziția 23. În altă hemoglobină — Gun Hill — lipsesc cinci aminoacizi din lanțul β: sînt absenți în pozițiile 91—95 sau 92—96. Purtătorii acestor hemoglobine prezintă o anemie hemolitică mai mult sau mai puțin importantă.

ALUNGIREA LANȚULUI

Dintre cei 64 de codoni, trei anunța terminarea sintezei lanțului polipeptidic. Codonul de terminație al lanțului α al hemoglobinei este UAA sau UAG. Dacă în unul dintre aceste triplete o bază a fost înlocuită cu altă bază (UAA→CAA sau UAG→CAG) și noii codoni codifică glutamina, atunci sinteza continuă cu acest aminoacid pînă la apariția unui nou codon de terminație. Aceasta înseamnă însă că genele pentru lanțul α au suficient de mult material pentru a asigura prelungirea lanțului polipeptidic. Mai multe observații demonstrează că presupunerea este reală. Dovada a adus-o din nou studiul hemoglobinelor anormale. Una dintre ele este hemoglobina Constant Spring. Ea are lanțul α alcătuit din 172 de aminoacizi. Primii 141 sînt identici cu cei ai lanțului α normal. Restul de 31 sînt deosebiți nu numai de lanțul α, dar și de celelalte globine umane.

Dăm mai jos succesiunea aminoacizilor în lanțul α normal și în lanțul α al hemoglobinei Constant Spring, după Weatherall și Clegg, 1976.

Numărul aminoacizilor	138-139-140-141-142-143-144-145-146...172
Lanţul α normal	Ser-Lis-Tir-Arg-Term.
Lanţul α^{cs}	Ser-Lis-Tir-Arg-Gln-Ala-Gli-Ala-Ser...Glu

Şi mai interesantă, sub raport teoretic, este hemoglobina Wayne. Lanţul α al acestei hemoglobine prezintă două particularităţi: are 146 de aminoacizi; 139 dintre ei sînt identici cu cei ai lanţului α normal. Explicaţia este următoarea. Codonul care codifică lizina din poziţia 139 a pierdut o bază. Consecutiv a avut loc o schimbare de fază. Codonul deficient se completează cu prima bază a codonului următor. Sinteza continuă pînă la primul codon de terminare, care apare în poziţia 147.

MUTAŢII ÎN SISTEMELE DE CONTROL

Teoretic vorbind, orice mutaţie în sistemele de control, fie în gena reglatoare, fie în gena operator, va afecta rata de sinteză a polipeptidelor determinate de genele structurale ale operonului respectiv. Aceste mutaţii se deosebesc astfel fundamental de mutaţiile genelor structurale. O mutaţie a genei reglatoare poate avea două consecinţe cu totul diferite:
— în urma mutaţiei sinteza represorului încetează. În absenţa lui genele structurale sintetizează continuu şi necontrolat produsul specific;
— în urma mutaţiei represorul are o structură modificată şi nu mai formează complexe cu inductorul prezent în celulă. El continuă să blocheze operatorul. În asemenea cazuri sinteza este blocată permanent.

Mutaţia poate să survină şi în gena operator şi rezultatele sînt din nou diferite:

— Operatorul nu mai funcţionează şi activitatea genelor structurale încetează;

— Operatorul funcţionează permanent şi implicit genele structurale funcţionează permanent.

În ipoteza în care mutaţia are loc în gena operator, va fi afectată numai activitatea genelor structurale adiacente. Celălalt operator funcţionează normal. Dacă mutaţia survine într-o genă reglatoare, va fi tulburată activitatea genelor structurale de pe ambii cromozomi.

Schema discutată porneşte de la cercetările efectuate pe microorganisme. Nu se ştie dacă un mecanism similar există şi la organismele superioare. S-a sugerat totuşi că unele tulburări ereditare ar putea fi expresia unor mutaţii în sistemele de control al sintezei proteinelor. Dar pe măsură ce aceste tulburări au fost studiate mai bine s-a văzut că ele au alte explicaţii. Capitolul rămîne deci deschis.

TALASEMIA

În exemplele date mai înainte un tip de mutaţie antrena un efect fenotipic specific. Exemplul care urmează are o semnificaţie cu totul deosebită. El demonstrează că o tulburare oarecare poate fi condiţionată de mai multe mutaţii independente, fiecare dintre ele avînd consecinţe clinice distincte. Este vorba despre talasemii, sau în sens foarte larg despre talasemie. Este cea mai frecventă boală ereditară din lume. Conform unor date aproximative, ar exista cel puţin 6 milioane de bolnavi, concentraţi în vestul bazinului mediteranean, în Orientul Mijlociu, în sudul Asiei pînă în Tailanda şi Malaezia. În unele regiuni mediteraneene 30% din populaţie este heterozigotă.

Talasemia este rezultatul unei deficienţe a sintezei unuia dintre cele două lanţuri ale hemoglobinei, α sau β. Sinteza celorlalte lanţuri este normală. În funcţie de lanţul afectat, se deosebesc două forme de talasemie: α talasemia, caracterizată printr-o diminuare a sintezei lanţurilor α, şi β talasemia, în care sinteza lanţurilor β este redusă sau absentă. Prima formă se numeşte talasemia β^{+} iar a doua — talasemie β°.

Deficienţa sintezei unuia sau altuia dintre lanţuri explică şi diversitatea manifestărilor clinice. În ipoteza în care molecula de hemoglobină nu este normal conformată, precipită şi este eliminată din circulaţie. Dacă numărul de celule eliminate este mare apare o anemie mai mult sau mai puţin severă.

Observaţiile clinice au impus ideea că există patru tipuri de α talasemie: un tip benign, un tip intermediar, un tip grav şi unul extrem de grav. Pentru a explica diversitatea formelor clinice din această formă de talasemie, H. Lehmann a plecat de la premisa că sinteza lanţurilor α este controlată de patru gene. Efectele clinice sînt direct pro-

porţionale cu numărul genelor mutante: în forma cea mai uşoară — α talasemia tăcută, fără tulburări clinice evidente — lipseşte un singur lanţ; în forma intermediară lipsesc două lanţuri, în forma gravă, trei iar în ultima, formă letală, (moartea survine în cursul vieţii intrauterine), lipsesc toate cele patru lanţuri.

În α talasemii absenţa lanţurilor α antrenează un exces de lanţuri γ la făt şi de lanţuri β la adult. Astfel, forma letală este constituită din tetrameri omogeni γ 4 (Hb Barts).

Talasemiile sînt grupul cel mai interesant, sub raport teoretic.

Talasemia β^+ este consecinţa unui defect parţial al sintezei lanţurilor β. Se pare ca la baza acestei tulburări stă o instabilitate a ARN-ului mesager β. Homozigoţii au o anemie binecunoscută, anemia Cooley, iar heterozigoţii au o formă atenuată a bolii.

Talasemiile β^0 sînt expresia unui deficit total al sintezei lanţurilor beta. Accidentul poate surveni la nivele diverse. Uneori a avut loc o deleţie. Din motive obscure, deleţia este parţială. Această formă se numeşte $\delta\beta^0$. Consecinţele clinice sînt minore iar heterozigoţii nu prezintă nici o tulburare.

În cele mai multe cazuri însă gena pentru lanţurile β este prezentă. Ea poate fi anormală sau este normală şi atunci defectul survine în alt punct al sintezei proteinelor (fig. 43).

În unele cazuri nu se formează ARN-ul mesager pentru globină. Se presupune că ar exista fie o anomalie a transcripţiei, fie a formării ARNm din ARN nuclear. Cercetările lui S. Ottolenghi (1976) au arătat că apar ambele defecte. Mecanismul iniţial este însă ipotetic. S-ar putea să existe o mutaţie structurală care blochează transcripţia; s-ar putea să lipsească o genă reglatoare distantă, care împiedică expresia genei structurale sau să lipsească întreaga secvenţă de control situată aproape de gena structurală pentru globină.

În alte cazuri ARNm se formează, ajunge în citoplasmă şi totuşi sinteza lanţurilor β nu are loc. Pentru a explica acest fapt s-a presupus că sinteza implică prezenţa unui factor solubil, indispensabil ataşării ARNm de ribozomi şi că uneori acest factor poate lipsi. Absenţa sintezei ar putea fi condiţionată şi de o deficienţă intrinsecă a ARNm.

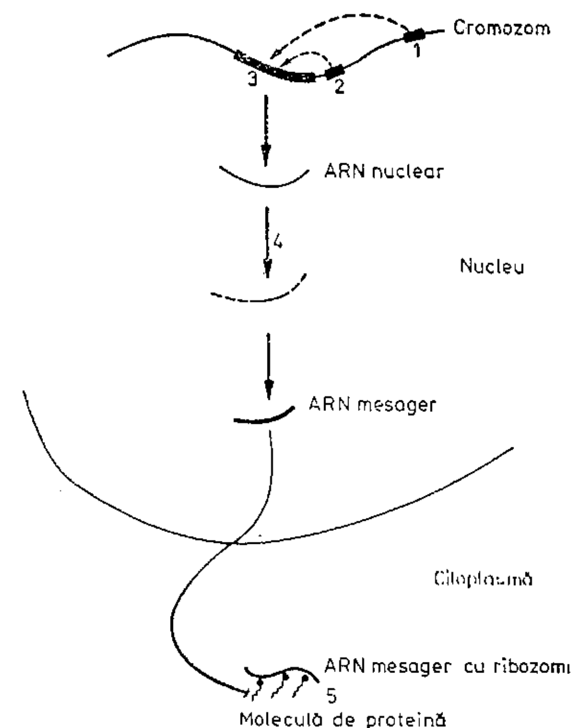


Fig. 43. Modurile de formare a talasemiilor. 1 = mutaţie într-o genă reglatoare distantă; 2 = mutaţie într-o genă reglatoare adiacentă genei structurale responsabile probabil de iniţierea transcripţiei; 3 = genă structurală care poate fi anormală sau absentă; 4 = defect în formarea ARNm (după Williams, 1977).

Manifestările clinice ale talasemiilor β^+ sînt asemănătoare cu cele ale talasemiilor β^0, deşi geneza lor este fundamental diferită.

Există, de asemenea, talasemii tăcute, care pot fi bănuite la copiii cu anemie Cooley care au doar un singur părinte heterozigot cert.

S-au descoperit şi talasemii γ şi δ, dar ele sînt mult mai rare decît formele precedente.

Rămîn încă destul de multe necunoscute. Important este faptul că studiul talasemiilor a dat o nouă explicaţie variabilităţii genetice. Iată în încheiere clasificarea actuală a talasemiilor.

Tabelul 16

Clasificarea β talasemiilor
(după Nigon și Godet, 1976)

Tip de talasemie	Hemoglobina homozigoților	Cauză probabilă
β+	Hb A_2-1—7% Hb F-20—70% sau 60—80% Hb A complement pînă la 100%	defect parțial al sintezei lanțurilor β instabilitate a mesagerului β — anumite cazuri
β°	Hb A_2-5—9% Hb F-91—95% Hb A-O	deficit total al sintezei lanțurilor — defect de maturație al ARNm — defect de structură al ARNm alterarea procesului de traducere
δβ	Hb A_2-0% Hb F 100% H_bA-0%	Deficit al sintezei lanțurilor δ și β deleția genelor structurale δ și β
Talasemia tăcută		
Talasemia intermediară	Hb A_2 1—7% sau 0% Hb F-20—70% sau 60—80% sau 100% H_bA_1 complement pînă la 100% sau 0%	defect de sinteză insuficient cunoscut — expresie a heterogenității genetice

POLIALELIA

Pe un locus dat se găsește o singură genă. Ea poate suferi o mutație și noua genă sintetizează o proteină mai mult sau mai puțin diferită de cea precedentă. La rîndul ei, și noua genă se poate modifica. În acest fel pe un locus specific se pot găsi două, trei sau mai multe gene diferite (alele). Genele situate pe același locus formează o serie polialelică (alelie multiplă). Ca atare, în orice populație există un număr variabil de alele. De pildă, există cel puțin 100 de variante de deficiență a glucozo-6-fosfat-dehidrogenazei și fiecare este

sub controlul unei alele. Numărul posibil de variante (alele) este totuși considerabil mai mare. În tabelul 17 sînt prezentate datele care sprijină această afirmație.

Tabelul 17

Numărul alelelor determinate de o singură substituție în genele structurale pentru lanțul beta al hemoglobinei, pentru glucozo-6-fosfat-dehidrogenază (G-6-P-D) și pentru catalază (după Aebi și Wyss, 1978)

	Lanțul beta	G-6-P-D	Catalază
Număr de aminoacizi	146	490	505
Alele posibile (aa × 9)	1 314	4 410	4 545
Variante detectate	130	100	10

Aceste exemple demonstrează întinderea variabilității umane. Cu tehnicile actuale nu se poate detecta decît o parte din totalul alelelor, mai exact se pot descoperi numai variantele cu încărcătură electrică diferită.

Alelismul este un fenomen prezent la toate speciile. S-a apreciat că 20—50% dintre toate genele există în cel puțin două forme alelice.

Numeroase exemple ar putea ilustra acest fenomen. Cel mai concludent, în biologia umană, îl constituie grupele sangvine din sistemul AB0, controlat de trei gene, situate pe cromozomul 9 uman. Două dintre ele sînt codominante — I^A și I^B și una recesivă I^0.

Aceste gene controlează sinteza unor enzime specifice — glicoziltransferazele — enzime care mediază formarea unor tipuri particulare de polizaharide; împreună cu lipidele formează glicolipidele membranei celulare.

Fiecare alelă specifică o glicoziltransferază proprie.

Formarea antigenilor din sistemul AB0 începe cu un dizaharid-galactozo-glucozamina, fiind controlată de o genă specifică. Intervin apoi o serie de enzime:

— enzima Le, controlată de gena Lewis, adaugă o fucoză și se formează substanța Lewis;

— enzima H adaugă o nouă fucoză și substanța Lewis se transformă în substanța H. La indivizii cu gena 0 această substanță rămîne nemodificată — ei au grupa sangvină 0;

— indivizii cu alela A codifică α-N-acetilgalactozamiltransferaza. Această enzimă adaugă polizaharidului H zaharul α-N-acetilgalactozamina și polizaharidul H se transformă în polizaharidul A, formîndu-se antigenul A;

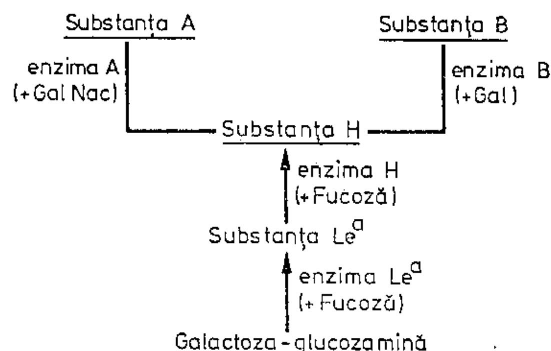


Fig. 44. Etapele formării grupelor sangvine Le^a și AB0 (după Salmon, 1974).

— alela B codifică enzima α-D-galactoziltransferaza. Această enzimă adaugă substanței H galactoză; se formează astfel antigenul B (fig. 44).

Pe locusul pentru antigenii AB0 s-au descoperit numeroase alele:

A_1, A_2, A_3, A_x — (A_4, A_5, A_z, A_o) A_m — $A_{int}, A_{el}, A_{bantu}, B, B_x, 0...$

Așa cum spuneam mai înainte, alelele A și B sînt dominante iar 0 este recesivă. Indivizii cu alelele A și B prezintă astfel ambele grupe sangvine.

Pornind de la aceste date se deduce că există 10 genotipuri și numai 6 fenotipuri importante.

Tabelul 18

Sistemul eritrocitar AB0

Genotip	Fenotip
A_1A_1 A_1A_2 A_10	A_1
A_2A_2 A_20	A_2
B B B 0	B
A_1B	A_1B
A_2B	A_2B
0 0	0

Dacă se cunosc grupele sangvine ale părinților se pot stabili și grupele sangvine posibile ale copiilor.

Tabelul 19

Grupele sangvine ale părinților și ale copiilor
(după Freye, 1968)

Grupa sangvină a unui părinte	Grupa sangvină a celuilalt părinte	Grupa sangvină posibilă a copiilor
0	0	0
A_1	A_1	0, A_1, A_2
A_2	A_2	0, A_2
B	B	0, B
A_1B	A_1B	A_1, B, A_1B
A_2B	A_2B	A_2, B, A_2B
0	A_1	0, A_1, A_2
0	A_2	0, A_2
0	B	0, B
0	A_1B	A_1, B
0	A_2B	A_2, B
A_1	A_2	0, A_1, A_2
A_1	B	0, A_1, A_2, B, A_1B, A_2B
A_1	A_1B	A_1, B, A_1B, A_2B
A_1	A_2B	A_1, A_2, B, A_1B, A_2B
A_2B	B	0, A_2, B, A_2B
A_2	A_1B	A_1, B, A_2B
A_2	A_2B	A_2, B, A_2B
B	A_1B	A_1, B, A_1B
B	A_2B	A_2, B, A_2B
A_1B	A_2B	A_1, B, A_1B, A_2B

MUTAȚIA SOMATICĂ

Prin mutații somatice se înțeleg toate modificările transmisibile care apar în genomul celulelor somatice. Ele pot fi genice sau cromozomale. Sînt transmisibile doar celulelor fiice. Sînt generate, se pare, de aceiași factori care favorizează și apariția mutațiilor germinale.

Deși, teoretic cel puțin, trebuie să existe numeroase asemenea evenimente, se cunosc destul de puține tulburări atribuibile mutațiilor somatice. Se pare astfel că petele pigmentare sînt expresia unei mutații genice într-un melanocit. În urma mutației el devine mai activ și produce mai multe granule de melanină. În timp, prin înmulțire selectivă, se stabilește o clonă. Mutațiile apar oricînd în cursul dezvoltării individuale, în perioada intrauterină sau mai tîrziu. Orientarea și forma

petelor pigmentare depind de momentul în care au apărut mutaţiile. Evoluţia lor este influenţată însă şi de condiţiile de mediu. Continuă să se dezvolte pe tot parcursul vieţii, fie spontan, fie sub influenţa radiaţiilor solare.

Mult mai bine cunoscute sînt mutaţiile cromozomale (vezi capitolul de citogenetică). Ele pot fi condiţionate de factori de mediu sau apar spontan. În ultima eventualitate frecvenţa lor creşte paralel cu vîrsta. Astfel, aneuploidia se accentuează în decada a şasea la femeie şi în decada a şaptea la bărbat. Multe dintre celulele acestor indivizi au numai 45 de cromozomi. Lipseşte îndeosebi unul dintre cromozomii de sex: X la femeie şi Y la bărbat. Celulele au astfel o constituţie cromozomală similară — 45,X.

Consecinţele acestor mutaţii nu sînt clare. S-a sugerat că aneuploidia spontană ar favoriza evoluţia proceselor de îmbătrînire. Deşi ipoteza pare plauzibilă, ea nu a fost confirmată.

Este sigur, aşa cum rezultă din datele epidemiologice, că indivizii expuşi unor agenţi mutageni fac semnificativ mai des neoplazii decît persoanele neexpuse. Rezultatele cele mai concludente au fost aduse de studiul indivizilor iradiaţi fie cu raze X, ca bolnavii cu spondilită anchilozantă, fie cu raze gamma şi neutroni, ca supravieţuitorii bombardamentelor atomice din Japonia. De pildă, după 25 de ani de la iradiere, aproximativ 85% dintre supravieţuitorii care au primit cel puţin 100 r prezintă anomalii cromozomale detectabile. În această populaţie frecvenţa cancerelor tiroidiene şi a leucemiilor este semnificativ mai mare decît în populaţia generală (Cohen şi Bloom, 1971).

O parte dintre tumori au punctul de plecare într-o mutaţie care survine într-o singură celulă iar altele se nasc din mai multe celule. Fialkow (1977) a studiat electroforetic glucozo-6-fosfat-dehidrogenaza în tumorile — celulele maligne — unor femei heterozigote — care au o dublă populaţie celulară: celule normale şi celule deficiente. El a pornit de la premisa că tumorile derivate dintr-o singură celulă vor avea un singur tip de G-6-P-D. Dacă tumorile sînt generate de mutaţii survenite în mai multe celule, atunci vor fi prezente ambele variante enzimatice. Rezultatele cercetării lui sînt sumarizate în tabelul 20.

Mutaţiile somatice par astfel să joace un rol mult mai important decît s-a bănuit pînă acum în patologia umană.

Tabelul 20

Originea celulară a unor tumori (după Fialkow, 1977)

Origine unicelulară	Origine multicelulară
Leucemia mieloidă cronică	carcinomul de colon
Leiomioamele	neurofibromatoza ereditară
Limfoamele (inclusiv Burkitt)	triboepiteliomul ereditar
Policitemia vera	
Neoplaziile endocrine multiple	
Neurofibroamele sporadice	

RESTAURAREA ADN-ULUI

Cercetările de radiobiologie au demonstrat că incidenţa mutaţiilor genice şi cromozomale este condiţionată de doza administrată şi de modul de administrare. O doză administrată acut antrenează mai multe mutaţii decît aceeaşi doză administrată fracţionat. Mai mult, numărul de mutaţii depinde de timpul scurs între iradieri: este cu atît mai redus, cu cît timpul dintre iradieri este mai mare. Aceasta înseamnă că celulele mutante sînt eliminate sau că mutaţiile sînt reparate. Dacă prima presupunere este acceptată ca atare de mult, restaurarea ADN-ului este o descoperire relativ recentă.

Toate speciile (şi procariotele şi eucariotele) au capacitatea de a-şi repara leziunile apărute în moleculele de ADN. După toate probabilităţile, mecanismele de reparare sînt fundamental similare. S-au descoperit trei mecanisme de reparare:

1) Primul, fotoreactivarea, se desfăşoară în prezenţa luminii vizibile. În aceste condiţii enzime de fotoreactivare dependente de lumină secţionează dimerii pirimidinici;

2) Repararea prin excizie constituie mijlocul cel mai răspîndit de restaurare a ADN-ului, indiferent dacă leziunile au fost provocate de substanţe chimice sau de variate tipuri de radiaţii. Se desfăşoară în etape (fig. 45): endonucleazele secţionează filamentul de ADN adiacent dimerului; exonucleazele exclud fragmentul ADN cu nucleotide anormale; ADN-polimerazele umplu cu noi nucleotide spaţiul rămas liber, folosind drept matriţă filamentul ADN opus; polinucleotid-ligazele unesc extremităţile libere.

Acest tip de reparaţie, numit reparaţie la întuneric, nu reclamă prezenţa luminii ca sursă de energie.

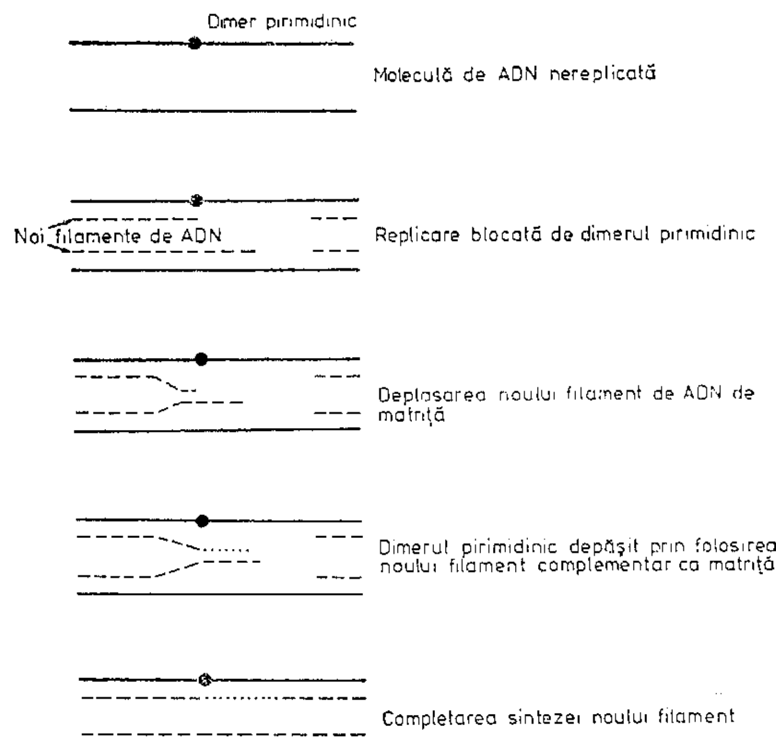


Fig. 45. Schema reparării ADN-ului la eucariote (după Bostock și Summer, 1978).

3) Reparația postreplicativă este cea mai puțin cunoscută. Elementul caracteristic al acestui tip de reparație este sinteza semiconservativă a filamentelor noi de ADN. În cursul replicării pe filamentul nou sintetizat rămîn spații libere în dreptul dimerilor pirimidinici, deoarece dimerii blochează sinteza ADN-ului. Numărul golurilor este egal cu numărul dimerilor pirimidinici. Deci ambele filamente sînt anormale: unul include dimeri pirimidinici iar celălalt spații goale. În ultima etapă are loc excizia dimerilor și refacerea filamentelor prin transferarea unor nucleotide de pe o moleculă soră pe alta.

S-ar putea ca refacerea leziunii să nu fie consecința replicării semiconservative, ci a unui mecanism numit sugestiv, de Fujiwara și Tatsumi, *replicative bypass* — replicare pe

un drum secundar. Conform acestui model, sinteza celor două filamente de ADN continuă pînă în dreptul dimerului pirimidinic. Acolo cele două filamente noi se apropie, îndepărtîndu-se astfel de filamentele parentale, și sinteza continuă pe lîngă dimer folosindu-se drept matriță filamentul fiu complementar și nu filamentul parental.

Primele două sisteme de reparație acționează cu o remarcabilă eficacitate și practic elimină toate erorile. Repararea postreplicativă produce însă adesea reparații incorecte, care rămîn ca mutații definitive.

La microorganisme, la drosofilă și la porumb s-au descoperit gene care măresc frecvența mutațiilor spontane ale altor gene — aceste gene se numesc gene mutator. În general, genele mutator interferează replicarea ADN-ului, recombinarea sau procesele de reparație. La fagul T_4 replicaza este specificată de gena 43. O mutație a acestei gene mărește rata de mutație spontană a altor gene. Studiul raportului dintre activitatea exonucleazelor și a polimerazelor a arătat că activitatea exonucleazelor este semnificativ mai mică decît la sușele normale. Deci fagii cu această mutație nu pot elimina decît o parte dintre împerecherile anormale de baze.

La porumb s-au descoperit elemente care își schimbă poziția în genom mărind frecvența mutațiilor genelor situate în apropierea locului de inserție.

Efectul detrimental al mutațiilor poate fi anulat de două categorii de evenimente:

— Supresia intragenică: o genă mutantă își poate relua funcția normală dacă survine o nouă mutație în aceeași genă:

— fie o substituție în codonul alterat anterior și noul codon permite încorporarea în lanțul polipeptidic a aminoacidului normal sau a unui aminoacid compatibil cu funcționalitatea genei, fie adăugarea sau eliminarea unei baze în ipoteza în care mutația a fost consecința unei deleții sau a inserției unei noi baze.

— Supresia intergenică: efectele nefavorabile ale unei mutații pot fi blocate de o mutație care survine în altă genă. Gena cu acțiune supresivă se numește supresor. Supresorii pot corecta direct sau indirect consecințele mutației. În primul caz supresorul poate fi un ARNt mutant care poate citi codonul anormal din ARNm; implicit, în lanțul polipeptidic va fi inserat aminoacidul normal — eventual va fi inserat alt aminoacid care restabilește structura moleculei de proteină.

Mutațiile supresor pot restabili funcția unei gene și indirect, modificînd un factor celular care intervine și corectează sinteza proteinei — un activator al proteinelor cum ar fi ionii de zinc, de pildă.

Frecvența mutațiilor spontane poate fi diminuată de apariția unor mutații antimutator. Asemenea mutații, descoperite tot la fagul T_4, elimină, mai eficient decît sușele normale, perechile anormale de dimeri pirimidinici.

Descoperirea proceselor de restaurare a ADN-ului, a genelor mutator și antimutator sugerează că cele mai multe dintre mutațiile spontane sînt consecința unor fenomene intrinseci.

BOLILE GENETICE

Prin boală genetică se înțelege orice condiție detrimentală determinată de o modificare a informației genetice. Ca atare, în grupul bolilor genetice intră toate tulburările condiționate de o singură mutație genică, poligenic sau de o anomalie cromozomală neechilibrată. Am folosit termenul de boală genetică deoarece nu toate bolile genetice sînt ereditare. Cele mai multe anomalii cromozomale, de pildă, nu sînt moștenite. Mai trebuie remarcat că nu toate bolile ereditare sînt congenitale. De pildă, coreea Huntington apare tîrziu, în medie în jurul vîrstei de 37 de ani, deși este condiționată de o mutație dominantă autozomală.

FRECVENȚA BOLILOR EREDITARE

Se admite că aproximativ 11—12% dintre toți nou-născuții au o tulburare genetică ce se manifestă sau care se va manifesta cîndva în cursul vieții. În funcție de numărul genelor implicate s-au deosebit trei grupe de tulburări genetice:

1) Boli monogenice, condiționate de o mutație genică. Aceste tulburări se transmit mendelean — dominant sau recesiv — autozomal sau legat de sex. Frecvența lor pare să oscileze în limite foarte largi, între 0,22% în Canada și 3,60% în Irlanda de Nord. Distribuția bolilor dominante, recesive și legate de sex — condiționate de mutații situate pe un cromozom X — este redată în tabelul 21.

Conform datelor recente raportate de UNSCEAR (1977), frecvența generală a bolilor ereditare condiționate de o singură mutație genică este de 1,1% printre nou-născuți. Dintre aceștia numai 0,1% sînt rezultatul unei mutații recesive în formă homozigotă.

Tabelul 21

Frecvența tulburărilor monogenice la naștere
(după Trimble și Doughty, 1974)

	Stevenson (1959)	Raportul Națiunilor Unite (UNSCEAR, 1962—1966)	Columbia Britanică (Canada)
Dominante	3,32	0,95	0,08
Recesive	0,21	0,21	0,11
Legate de sex	0,04	0,04	0,04

Se pare deci că incidența bolilor ereditare variază de la o serie la alta. În Canada este considerabil mai mică decît în Irlanda de Nord. Incidența bolilor recesive este constantă. Numai în Canada sînt mai frecvente decît cele dominante.

S-a calculat și frecvența erorilor înnăscute de metabolism. După datele lui Levy și col. (1973), incidența lor variază între 1/15 000 și 1/300 000 de nou-născuți. Cele mai frecvente sînt fenilcetonuria și cistinuria iar cele mai rare, sindromul Fanconi și rahitismul vitamino-rezistent. Pornind de la aceste date se poate calcula frecvența heterozigoților la 1 000 de indivizi. Ea este de 16 pentru primele două mutații și 3 pentru ultimele două. S-a dedus că 11% dintre indivizi ar fi heterozigoți pentru o alelă care în formă homozigotă are efecte detrimentale.

Există însă și erori metabolice fără efecte clinice manifeste, detectabile doar în condiții particulare. De exemplu, deficiența lactozei. Indivizii deficienți nu pot metaboliza laptele. Administrarea laptelui în cantități crescînde induce toleranța clinică. Valorile lactozei jejunale rămîn însă neschimbate. Numeroase cercetări au demonstrat că anomalia este extrem de frecventă. În populațiile sud-mediteraneene frecvența variază între 66 și 100%; ajunge la 90% printre chinezi și este relativ rară printre europeni: 2—24%. Deficiența este, de asemenea, foarte frecventă, cu puține excepții, printre negri. Deficiența este condiționată de o mutație recesivă în formă homozigotă (tabelul 22).

2) Bolile cromozomale: 0,5—1% dintre toți nou-născuții au o aberație cromozomală oarecare, numerică sau structurală, cu consecințe variate.

Tabelul 22

Incidența la naștere a cîtorva tulburări ereditare condiționate de mutații dominante și legate de sex (după Vogel și Motulsky, 1979)

Tulburarea	Incidența la mia de nou-născuți
Hipercolesterolemia familială monogenică	2,0
Otoscleroza dominantă	1,0
Rinichiul polichistic al adultului	0,8
Exostozele multiple	0,5
Coreea Huntington	0,4
Sferocitoza ereditară, neurofibromatoza, distrofia musculară de tip Duchenne	0,2
Polipoza ereditară, dentinogeneza imperfectă, hemofilia A	0,1
Osteogeneza imperfectă, sindromul Marfan	0,04
Hemofilia B, retinoblastoma ereditară	0,03
Acondroplazia, porfiria acută intermitentă, albinismul ocular, nistagmus	0,02
Scleroza tuberoasă, sindromul Ehlers-Danlos, osteopetroza tardivă, imperforare anală legată de sex	0,01

3) Bolile poligenice constituie unul dintre capitolele cele mai obscure din patologia genetică. Este un grup polimorf care include tulburări extrem de diferite, de la malformațiile congenitale comune la schizofrenie. Frecvența acestor tulburări este deosebit de mare: 10% sau ceva mai mult.

În general, bolile ereditare grave sînt rare: 1/10 000 sau mai puțin. Dacă asemenea tulburări au o frecvență mai mare atunci heterozigoții au un avantaj selectiv.

DISTRIBUȚIA BOLILOR EREDITARE

Pe măsură ce numărul informațiilor crește se conturează cu mai multă claritate ideea că frecvența bolilor ereditare variază de la o populație la alta. În tabelul 23 sînt incluse cîteva exemple.

Chiar în interiorul unei țări frecvența tulburărilor ereditare diferă de la un grup etnic la altul sau de la o populație la alta. De pildă, populația actuală a Israelului este constituită din imigranți veniți din toate colțurile lumii. Mulți dintre ei au trăit înainte în colectivități relativ închise. Implicit, frecvența genelor diferă de la o populație la alta. Și

Tabelul 23

Frecvenţa unor boli ereditare în diverse populaţii
(parţial după Damon, 1969)

Populaţia	Tulburări relativ frecvente	Tulburări relativ rare
Evrei aşkenazi	abetalipoproteinemia boala lui Bloom disautonomia familială boala lui Gaucher boala lui Niemann-Pick pentozuria boala lui Tay-Sachs	fenilcetonuria
Populaţii mediteraneene (greci, italieni, evrei sefarzi)	febra familială mediteraneană deficienţa G-6-P-D talasemia	fibroza chistică
Africani	deficienţa G-6-P-D hemoglobinopatii (Hb S, Hb C)	fibroza chistică hemofilie fenilcetonurie boala lui Wilson
Cambogieni	hemoglobina E	
Birmanezi	hemoglobina E	
Japonezi	acatalazie discromatopsii boala lui Oguchi	
Chinezi	talasemie deficienţa G-6-P-D	
Armeni	febra familială mediteraneană	
Eschimoşi	deficienţa pseudocolinesterazei	

patologia lor genetică poate prezenta note particulare. După datele sumarizate de Cohen (1975), febra mediteraneană apare des printre evreii originari din bazinul mediteranean, de pildă, printre cei originari din Libia frecvenţa este de 1/1 150. Printre evreii din Maroc frecvenţa glicogenozei de tip III, condiţionată de deficienţa amilo-1,6-glucozidazei, este de 1/5 000. Deosebit de mare este deficienţa pseudocolinesterazei printre evreii din Irak şi din Iran. În aceste grupe frecvenţa heterozigoţilor este de 1/10.

Pentozuria congenitală, o eroare metabolică fără manifestări clinice, apare aproape exclusiv printre evreii originari din Europa răsăriteană: 1/5 000. Eroarea metabolică este practic necunoscută în restul lumii.

După imigrare, căsătoriile în cadrul aceluiaşi grup etnic au devenit mai rare. În acest fel scade şi frecvenţa homozigoţilor. Cohen aprecia că 8 000 dintre cei 30 000—40 000 de evrei kurzi au talasemie. Prin amestecul lor cu evrei care nu au mutaţia, incidenţa homozigoţiei va scădea la 1/500 000.

MALFORMAŢIILE CONGENITALE

După datele publicate de Organizaţia Mondială a Sănătăţii în 1966 incidenţa malformaţiilor congenitale, indiferent de natură, este de 2%. Există însă diferenţe geografice mari. În timp ce la Calcutta incidenţa era de numai 0,31%, la Melbourne (Australia) şi Panama City (Panama) urca la 2%. Aceste estimări trebuie acceptate cu rezerve, deoarece unele statistici n-au inclus malformaţiile minore, iar altele nu au inclus cîteva malformaţii comune, ca luxaţia congenitală de şold — aceste anomalii nu au fost căutate sistematic. Aşa cum remarca Carter (1967), mai importantă decît media este frecvenţa tipurilor de malformaţii. Cum era de aşteptat, au apărut o serie de diferenţe importante.

Anencefalia survine extrem de frecvent la Belfast (Irlanda) şi în Scoţia (4,5‰). O frecvenţă similară are şi spina bifida (4,4‰). În restul lumii doar la Alexandria (Egipt) s-au mai întîlnit valori atît de mari (3,8‰, anencefalia şi 2,7‰, spina bifida). Frecvenţele obişnuite oscilau între 0,3 şi 1‰ pentru anencefalie şi 0,3—1,5‰ pentru spina bifidă chistică.

Frecvenţa buzei de iepure, cu sau fără despicătură palatină, variază de asemenea de la o populaţie la alta (buza de iepurare cu sau fără despicătură palatină şi despicătura palatină izolată constituie entităţi genetice distincte). Buza de iepure, cu sau fără despicătură palatină, este extrem de rară în populaţiile bantu: 0,1‰; ajunge la valori intermediare în populaţiile europene şi la valori mari printre mongoli: 1,4—1,6‰.

Populaţiile bantu au însă frecvent polidactilie. Anomalia apare des şi în America Latină, în zonele în care există un puternic contingent de negri. În Europa este rară: sub 0,5‰.

Multe malformaţii apar semnificativ mai des printre embrionii avortaţi spontan. Spina bifidă, de pildă, este de 10 ori mai frecventă printre aceşti embrioni decît printre nou-născuţi.

După toate probabilităţile, cea mai mare parte dintre embrionii cu malformaţii externe sînt eliminaţi. Dacă nu ar surveni acest fenomen atunci incidenţa malformaţiilor

congenitale ar ajunge la 13%. Oricum, după datele lui Straford (1970), 67% dintre embrionii mai mici de 9 săptămîni, eliminați spontan, sînt anormali.

Este firesc ca populațiile să prezinte un repertoriu mutațional diferit, deoarece au trăit în condiții de mediu diferite și au fost supuse unor presiuni selective diferite.

DETERMINAREA NATURII TULBURĂRII

Una dintre problemele fundamentale ale geneticii medicale este aceea de a stabili natura unei tulburări mai mult sau mai puțin caracteristice. Concluzia asupra naturii tulburării este rezultatul unor investigații complexe: cercetarea amănunțită a istoricii familiale, evoluția individului, inclusiv istoria evoluției lui intrauterine și cercetarea biochimică și citogenetică a individului și deseori și a familiei lui.

Tulburările condiționate de o singură mutație genică au o anumită concentrare familială și un mod de transmitere caracteristic. Nu orice tulburare familială este și ereditară. Unele malformații congenitale pot fi condiționate de factori de mediu repetitivi. Certitudinea o aduce descoperirea unui defect biochimic specific. Dar în multe asemenea tulburări, defectul biochimic nu a fost încă descoperit. În atari circumstanțe demonstrarea originii genetice o poate aduce studiul epidemiologic și gemelologic.

Sindroamele plurimalformative severe sugerează existența unei anomalii cromozomale autozomale. Anomaliile diferențierii sexuale sugerează prezența unei aberații a cromozomilor de sex.

Particularitățile eredității poligenice sînt discutate în alt capitol.

ERORILE ÎNNĂSCUTE DE METABOLISM

La începutul acestui secol, Garrod, un medic englez, a studiat cîteva boli rare, printre care și alcaptonuria, o dezordine a metabolismului aminoacizilor. Tulburarea se distinge printr-o excreție urinară masivă și constantă de acid homogentisic. Acest acid nu are nici o culoare. De aceea urina bolnavilor are inițial o culoare normală. Acidul homogentisic se oxidează rapid în contact cu aerul și dă urinii o culoare neagră. Garrod a observat apoi că bolnavii și indivizii normali metabolizează diferit acidul homogentisic administrat experimental. La primii, eliminarea urinară crește considerabil. La ultimii concentrarea urinară nu se modifică. La fel se întîmplă după administrarea de proteine. Ele conțin fenilalanină și tirozină care nu mai pot fi metabolizate dincolo de acid homogentisic. Pornind de la aceste observații, Garrod a presupus că acidul homogentisic este un intermediar în catabolismul fenilalaninei și tirozinei și că la alcaptonurici el nu mai este degradat datorită absenței unei enzime specifice. Consecutiv el se acumulează în țesuturi.

Garrod nu a ezitat să afirme că alcaptonuria este o maladie ereditară. Cunoștințele lui de genetică se opreau aici. De aceea a cerut ajutorul lui Bateson, unul dintre fondatorii geneticii, și acesta i-a arătat că alcaptonuria se transmite recesiv autozomal.

Presupunerile lui Garrod au fost exacte. Cîteva decenii mai tîrziu La Du a demonstrat că alcaptonuria este consecința unei deficiențe enzimatice — a homogentisic acid-oxidazei.

Tulburările condiționate de o deficiență enzimatică, la rîndul lor expresia unei mutații genice, au primit numele de erori înnăscute de metabolism. Dar în sens larg toate tulburările ereditare sînt erori de metabolism.

Deci erorile de metabolism sînt urmarea unei deficiențe enzimatice specifice. Prin deficiență enzimatică se înțelege reducerea activității unei enzime specifice sau absența activității unei enzime date. Deficiența enzimei blochează un lanț metabolic specific.

Mutația poate surveni într-o genă structurală sau, ipotetic, într-o genă de reglare. O modificare a primei gene, indiferent de natura ei: substituție, deleție, poate antrena încetarea sintezei enzimei (o genă al cărei produs nu mai poate fi detectat se numește genă tăcută).

De cele mai multe ori mutația diminuează activitatea catalitică. Mai rar, se pare, se sintetizează o enzimă instabilă.

Acestea sînt deficiențele enzimatice primare. Uneori defectul enzimatic este consecința unui eveniment postsintetic. El duce la schimbarea capacității catalitice sau a stabilității enzimei.

În mod cu totul excepțional, un singur defect poate determina alterarea mai multor enzime. După Kahn și Dreyfus (1979), accidente diferite pot avea același rezultat: alterarea

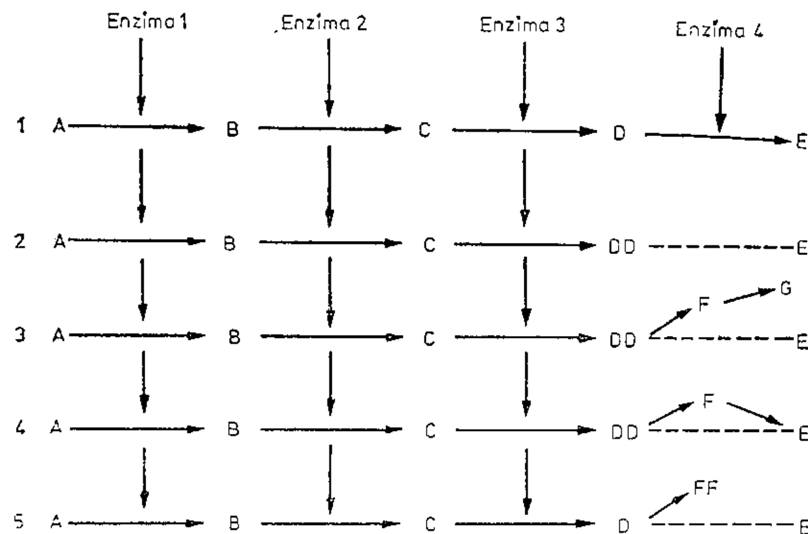


Fig. 46. Prezentarea schematică a modurilor de apariţie a erorilor înnăscute de metabolism.

uneia dintre componentele unui complex polienzimatic, substrat comun alterat.

Un număr relativ redus de erori de metabolism este consecinţa unei alterări enzimatice secundare — proenzima inactivă nu mai este transformată într-o enzimă eficientă. În asemenea circumstanţe enzima este structural anormală sau este deficient sistemul de activare. Prima posibilitate este ilustrată de o serie de variante ale protrombinei care nu mai pot fi clivate în trombină. Deficienţele multor factori ai coagulării ilustrează cea de-a doua modalitate.

Consecinţele imaginare ale unei deficienţe enzimatice sînt prezentate în fig. 46.

Substanţa A este transformată printr-o serie de reacţii intermediare în produsul final E. Procesul este controlat de patru enzime, fiecare dintre ele condiţionate de o genă specifică (1). În exemplul următor este deficientă enzima 4. Implicit, sinteza produsului E încetează. Lipsa lui explică fenomenele clinice. Se poate întîmpla ca substanţa D să se acumuleze şi să fie toxică — exemplul 3. Eventual substanţa D este metabolizată în produşii F şi G. Consecinţele depind de cantitatea de D transformată şi de rolul produşilor F şi G. În unele circumstanţe sinteza produsului E se realizează pe o

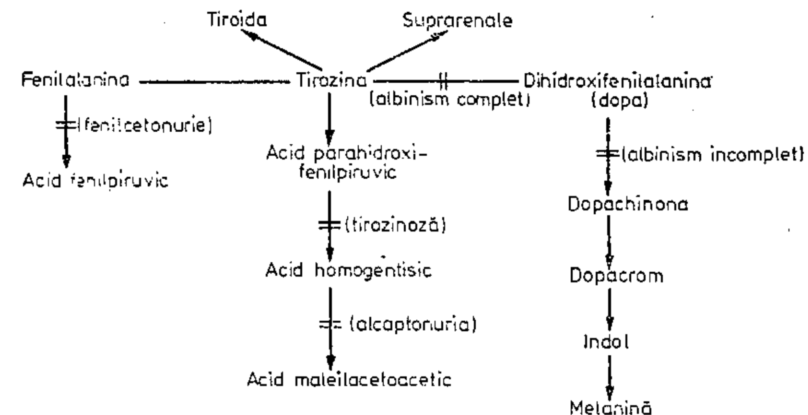


Fig. 47. Metabolismul aminoacizilor aromaţi.

cale metabolică secundară — exemplul 4. În sfîrşit, se poate întîmpla ca substanţa D să fie transformată în întregime în produsul F.

Un proces biochimic poate fi blocat oriunde.

Metabolismul aminoacizilor aromaţi poate fi întrerupt în cinci puncte, datorită deficienţei mai multor enzime specifice (fig. 47):

1) Deficienţa fenilalanil hidroxilazei blochează conversiunea fenilalaninei în tirozină (fenilcetonurie);

2) Deficienţa parahidroxifenil piruvic acid-oxidazei blochează transformarea acidului parahidroxifenil piruvic în acid homogentisic (tirozinemie);

3) Deficienţa homogentisic acid-oxidazei împiedică conversiunea acidului homogentisic în acid maleilacetoacetic (alcaptonurie).

4) Deficienţa tirozinazei blochează transformarea tirozinei în dihidroxifenilalanină(dopa) — în această reacţie intervin şi alte enzime. Consecutiv deficienţei nu se mai formează melanina — pigmentul celulelor epidermice. Deficienţa acestei enzime antrenează o formă particulară de albinism — albinismul complet sau albinismul tirozino-negativ. Dacă deficienţa enzimatică blochează o etapă ulterioară, după formarea dihidroxifenilalaninei, rezultă albinismul incomplet sau albinismul tirozino-pozitiv.

Deficienţa unei enzime antrenează deci fie acumularea substratului, fie absenţa produsului final, fie şi una şi alta.

Câteva exemple vor ilustra cele mai importante tipuri observate în patologia umană.

1) Absența produsului final. O serie de tulburări endocrine sînt consecința absenței produsului final — a hormonilor activi.

Glanda tiroidă secretă doi hormoni activi: triiodotironina și tetraiodotironina (tiroxina). Sinteza celor doi hormoni începe prin captarea iodului circulant. Imediat după captare iodura este convertită în iod sub acțiunea sistemului de peroxidaze tiroidian. Iodul oxidat se leagă de o moleculă de tirozină dînd naștere unei molecule de monoiodotirozină. Urmează o nouă iodare din care rezultă diiodotirozina. În prezența unor enzime de cuplare o moleculă de monoiodotirozină și una de diiodotirozină formează triiodotirozina iar două molecule de diiodotironină formează tiroxina. Inițial cei doi hormoni sînt legați de lanțul polipeptidic al tiroglobulinei, proteină specifică a tiroidei. Ulterior hormonii sînt eliberați de către enzimele proteolitice tiroidiene și pătrund în circulație. La rîndul lor, iodotirozinele sînt deiodate de către o dehalogenază și iodul eliberat este reutilizat.

Hormonii sînt transportați în sînge reversibil, de proteine serice specifice (fig. 48).

Formarea și eliberarea hormonilor tiroidieni sînt controlate de un hormon hipofizar — hormonul de stimulare tiroidiană.

Hormonii sînt transportați în sînge, reversibil, de proteine oxigen, cresc rata de încorporare a aminoacizilor în ribozomi, accentuează maturarea sistemului nervos central, stimulează creșterea organelor și țesuturilor.

Sinteza hormonilor tiroidieni poate fi întreruptă în toate etapele controlate enzimatic. Implicit producția de hormoni diminuează. Scăderea sintezei hormonale antrenează o creștere a nivelului hormonului de stimulare tiroidian. Sub acțiunea lui, tiroida se hiperplaziază și se lărgește. Dacă defectul intratiroidian nu este total, tiroida lărgită reușește să producă o cantitate adecvată de hormoni, și nu apar nici un fel de tulburări clinice. În ipoteza în care defectul este sever se instalează fenomene de hipotiroidism. Este bine cunoscut clinic și biochimic hipotiroidismul familial cu gușă (cretinismul sporadic cu gușă). Sindromul se distinge prin tulburări de creștere, maturație osoasă întîrziată, modificări epifizare, înapoiere mintală...

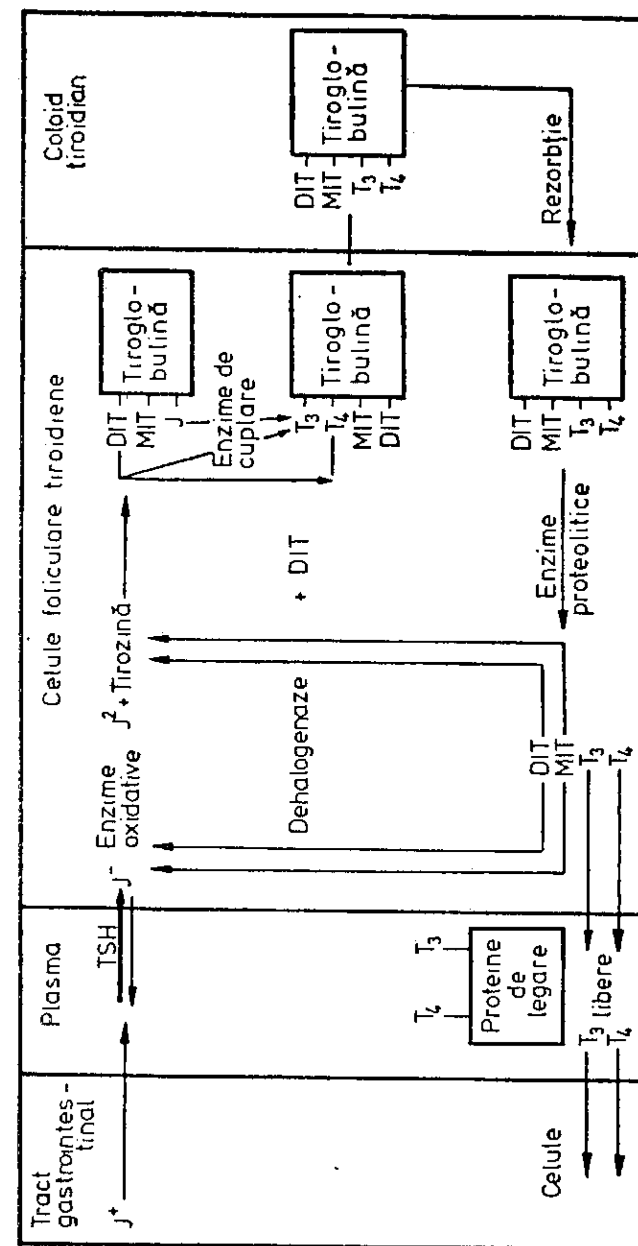


Fig. 48. Sinteza hormonilor tiroidieni: DIT = diiodotironina; MIT=monoiodotirozina; T_3 = triiodotironina; T_4 = tiroxina; TSH = hormon de stimulare tiroidian.

Sindromul poate fi consecința unuia dintre următoarele blocuri metabolice:

— absența captării iodului;

— absența legării organice a iodului captat, datorită deficienței peroxidazei;

— absența mecanismului de cuplare a iodotirozinelor;

— absența deiodării iodotirozinelor, datorită deficienței dehalogenazei;

— producerea unei proteine iodate anormale.

Se pare că ar exista și alte erori în metabolismul hormonilor tiroidieni, dar ele sînt mai puțin cunoscute. Oricum, toate deficiențele enzimatice sînt expresia unor mutații recesive autozomale în formă homozigotă.

S-a remarcat mai înainte că albinismul este consecința deficienței melaninei și că există două tipuri de albinism.

În albinismul complet părul este alb sau gălbui, pigmentația feței este roz-pal, irisul are o culoare albăstruie-pală iar pupila este roșie. Absența pigmentului din ochi, necesar absorbției luminii, duce la numeroase tulburări oculare: fotofobie, anomalii de refracție. Această formă este condiționată de o mutație recesivă autozomală. A fost descrisă la numeroase specii de mamifere.

Albinismul incomplet include mai multe forme determinate de mutații distincte. Clinic seamănă cu forma precedentă. Dar părul și irisul nu au o culoare atît de deschisă și, uneori, în cursul vieții, apare pigmentația. Una dintre forme este expresia unei mutații recesive autozomale iar altă formă este condiționată de o mutație dominantă.

Albinismul ocular este condiționat de o mutație recesivă legată de sex. Se distinge prin deficiența pigmentului ocular. Pigmentația corporală este normală.

2) Acumularea precursorului imediat al reacției blocate. Galactozemia este una dintre cele mai frecvente erori înnăscute de metabolism. Ea este determinată de deficiența galactozo-1-fosfaturidil-transferazei (fig. 49). Datorită blocului enzimatic, galactozo-1-fosfat nu mai este convertit în glucozo-1-fosfat. Primul metabolit se acumulează în țesuturi, în creier, rinichi, glandele suprarenale, cornee și inhibă o serie de enzime implicate în metabolismul carbohidraților.

Galactoza este un element important al alimentației copiilor – este unul dintre constituenții laptelui. Copiii hrăniți cu lapte vor primi cantități mari de galactoză, imposibil de metabolizat. În acest fel apar tulburările clinice: înapoiere

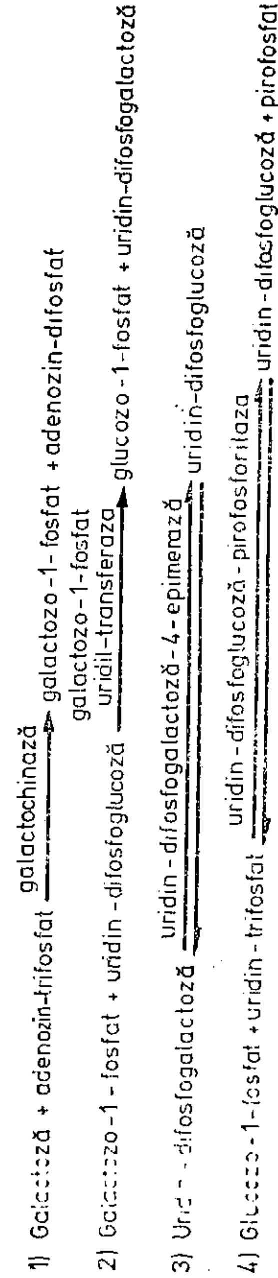


Fig. 49. Metabolismul galactozei.

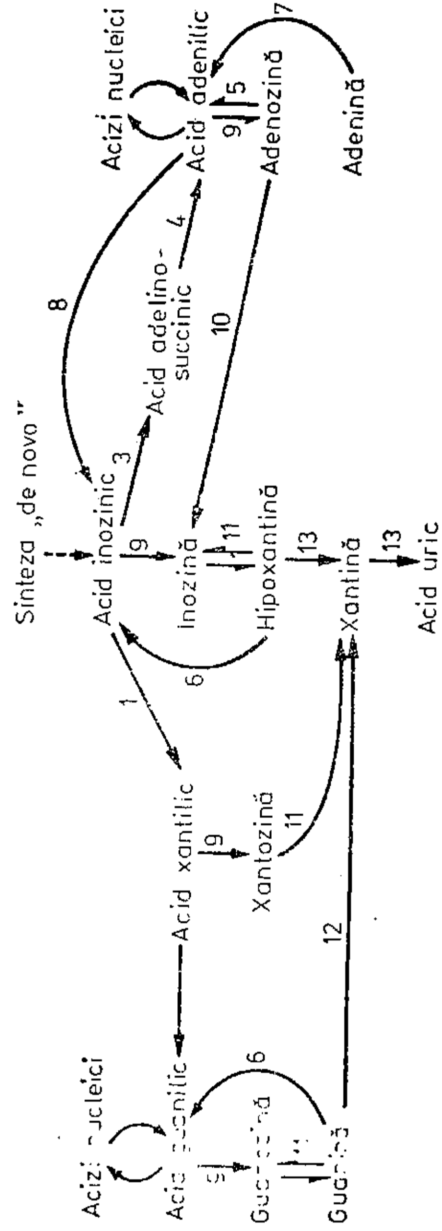


Fig. 50. Metabolismul bazelor, nucleozidelor și nucleotidelor purinice.
1 = inozină monofosfat-dehidrogenaza; 2 = xantozină monofosfat-aminaza; 3 = adenilat-succinat-sintetaza; 4 = adenilosuccinaza; 5 = nucleozid kinaza; 6 = hipoxantin-guanin-fosforibozil-transferaza; 7 = adenin-fosforibozil-transferaza; 8 = adenozin-monofosfat-dezaminaza; 9 = fosfataza (5' nucleotidaza); 10 = adenozin-dezaminaza; 11 = nucleozid-fosforilaza; 12 = guanaza; 13 = xantin-oxidaza.

mintală, ciroză hepatică, cataractă. Dacă diagnosticul nu este pus rapid, moartea survine frecvent. Dar este suficient să se elimine galactoza din alimentaţie şi condiţia copilului se ameliorează spectaculos. În ipoteza în care diagnosticul a fost asigurat timpuriu şi regimul alimentar a fost riguros, copiii se dezvoltă normal.

Un alt exemplu îl constituie xantinuria, condiţionată de o deficienţă a xantin-oxidazei, enzimă care are un rol important în sinteza acidului uric (fig. 50). Ea intervine în oxidarea hipoxantinei şi xantinei în acid uric. Consecutiv defectului enzimatic, sinteza acidului uric diminuează iar concentraţia serică şi urinară a xantinei şi hipoxantinei creşte. Aceşti intermediari au însă o solubilitate slabă şi de aceea favorizează uneori apariţia precoce a litiazei renale. Mai rar se formează depozite musculare de xantină şi hipoxantină.

Tulburarea este condiţionată de o mutaţie recesivă în formă homozigotă. S-a remarcat totuşi că anomalia biochimică poate trece neobservată. Cu alte cuvinte, nu toţi purtătorii mutaţiei prezintă tulburări clinice. Pentru a se explica acest fenomen s-a avansat presupunerea că indiferent de cantitatea de xantină şi hipoxantină eliminată formarea litiazei renale reclamă participarea suplimentară a unei gene specifice.

3) Acumularea unor precursori mai îndepărtaţi de reacţia blocată. Un asemenea fenomen este întîlnit în cazurile în care reacţiile anterioare blocului sînt reversibile.

Atît sinteza cît şi degradarea glicogenului sînt controlate de serii de enzime. Astfel, produsul principal al degradării glicogenului este glucozo-1-fosfat. Acesta este convertit de fosfoglucomutază în glucozo-6-fosfat. În ficat, glucozo-6-fosfatul este hidrolizat de glucozo-6-fosfatază şi dă naştere glucozei libere care trece apoi în circulaţie. În absenţa enzimei glicogenul se acumulează în ficat şi rinichi — enzima nu este prezentă în muşchi.

4) Creşterea producţiei unui produs alternativ.

Fenilcetonuria este una dintre cele mai frecvente erori de metabolism cunoscute. Este rezultatul unei deficienţe a fenilalanil-4-hidroxilazei. Deficienţa blochează transformarea fenilalaninei în tirozină. Fenilalanina se acumulează iar o parte este degradată în acid fenil-piruvic şi apoi în acid fenilacetic sau este decarboxilată în acid fenilacetic care este conjugat în fenil-acetil-glutamină. Fenilalanina este de asemenea convertită în acid hidroxifenilacetic. Fenilalanina şi derivaţii ei au

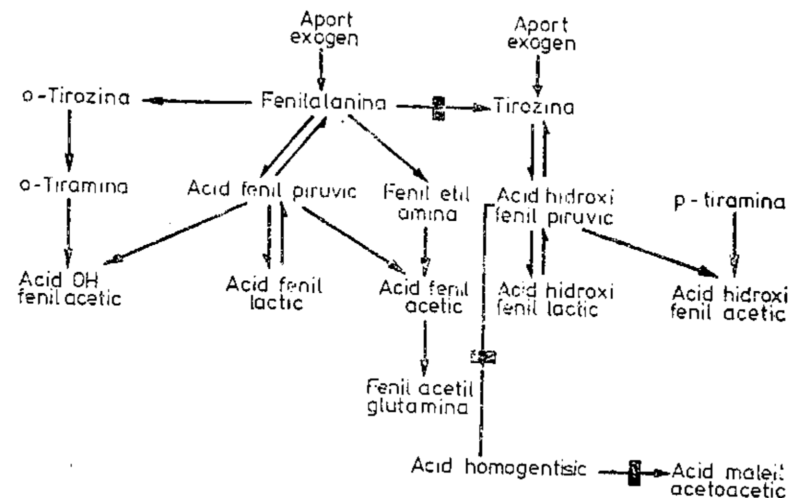


Fig. 51. Tulburările metabolice în fenilcetonurie.

acţiune toxică asupra sistemului nervos central. În acest fel se explică înapoierea mintală profundă a copiilor afectaţi (fig. 51).

Aceasta este forma clasică de fenilcetonurie. S-au izolat însă şi forme care nu răspund la regimul dietetic. Din această cauză au fost incluse în grupa hiperfenilalaninemiilor maligne. Toate se disting prin deficienţa L-eritro-5, 6, 7, 8-tetrahidrobiopterin — cofactorul apoenzimei fenilalanin-4-hidroxilazei. Defectul primar este o deficienţă enzimatică ce blochează la diverse nivele sinteza cofactorului.

Glanda suprarenală sintetizează o serie de hormoni indispensabili dezvoltării normale a organismului. Precursorul tuturor hormonilor este colesterolul. Printr-o serie de reacţii care implică prezenţa unor enzime specifice se formează trei grupe de hormoni:

1) Mineralocorticoizii, al căror prototip este aldosteronul. Mineralocorticoizii au un rol important în reabsorbţia sodiului în tubul renal. Astfel, creşte concentraţia intracelulară a sodiului în celulele tubului renal, iar potasiul scapă în lumenul tubului.

2) Glucocorticoizii; cel mai important hormon din această grupă este cortizolul. Aceşti hormoni cresc sinteza enzimelor implicate în gluconeogeneză, induc sinteza grăsimilor, accentuează diureza, măresc performanţa musculară.

3) Sexoizi, în primul rînd androgeni: dehidroepiandrosteron, androstenedion şi, în cantităţi foarte mici, testosteron. Corticosuprarenala asigură şi sinteza unei cantităţi reduse de estrogeni.

Sinteza acestor hormoni este identică, în multe privinţe cu cea din gonade, din testicul şi ovar. Fireşte, ovarele produc îndeosebi estrogeni iar testiculele, androgeni.

Androgenii sînt importanţi la femeie, deoarece ea nu are altă sursă de producere a acestor hormoni. Prezenţa lor în cantităţi excesive favorizează apariţia hirsutismului — dezvoltarea exagerată a pilozităţii — şi a unui habitus masculin. Dacă excesul de androgeni apare în perioada de formare a organelor genitale externe apar fenomene de intersexualitate.

Secreţia şi eliberarea glucocorticoizilor sînt reglate de ACTH, hormon hipofizar, la rîndul lui controlat de un hormon hipotalamic — CRF (*corticotropin releasing factor*). Cînd nivelul cortizolului creşte eliberarea CRF hipotalamic diminuează şi scade şi nivelul ACTH-ului. Scăderea nivelului cortizolului stimulează eliberarea ACTH-ului.

În ipoteza în care survine o mutaţie genică specifică sinteza hormonilor steroizi încetează în şirul de reacţii în care este implicată enzima absentă, dar continuă pe căile rămase libere (fig. 52).

Se cunosc mai multe deficienţe enzimatice:

1) Deficienţa 21-hidroxilazei. Deficienţa totală sau parţială are drept urmare blocarea sintezei cortizolului şi a aldosteronului. Rămîne liberă calea androgenilor. Şi sinteza lor creşte. Efectele lor depind de momentul în care ating un prag critic. Dacă deficienţa enzimatică a apărut timpuriu şi nivelul critic a fost atins în perioada edificării organelor genitale, apar, numai la fete, malformaţii evidente ale structurilor genitale. Dacă nivelul critic a fost atins mai tîrziu, anomaliile genitale sînt reduse. Se adaugă dezvoltarea excesivă a pilozităţii şi amenoreea (absenţa menstruaţiei). Cînd deficienţa enzimatică este completă, sinteza aldosteronului încetează şi apar tulburări severe consecutive pierderii de sare.

2) Deficienţa 11 β-hidroxilazei blochează sinteza cortizolului. Se acumulează 11-deoxicorticosteron, un mineralocorticoid puternic care explică prezenţa hipertensiunii; creşte şi producţia de androgeni, cu consecinţe similare deficienţei 21-hidroxilazei.

Fig. 52. Metabolismul hormonilor steroizi; 1=20α-hidroxilaza; 2=22-hidroxilaza; 3=20, 22-desmolaza; 4=3 β-hidroxisteroid-dehidrogenaza Δ^5-izomeraza; 5=21-hidroxilaza; 6=11 β-hidroxilaza; 7=18 hidroxilaza; 8=18-hidroxisteroid-oxidoreductaza; 9=11 β-hidroxisteroid-oxidoreductaza; 10=17 α-hidroxilaza; 11=17,20 desmolaza; 12=17 β-hidroxisteroid-oxidoreductaza; 13=19-hidroxilaza; 14=5 α-reductaza; 15= sistemul enzimatic de aromatizare; 16=16α-hidroxilaza.

3) Deficiența 17α hidroxilazei antrenează o diminuare a sintezei cortizolului și a androgenilor și o accentuare a sintezei aldosteronului. Deoarece defectul enzimatic este prezent și în gonade apar fenomene de hipogonadism.

4) Deficiența hidroxisteroid-dehidrogenazei blochează conversiunea pregnenolonului în progesteron. Consecutiv, producția glucocorticoizilor scade. Diminuarea are efecte fatale. Scade, de asemenea, sinteza mineralocorticoizilor. Se sintetizează doar unul dintre precursorii testosteronului, dehidroepiandrosteron, care masculinizează embrionul feminin.

5) Deficiența desmolazei împiedică conversiunea colesterolului în steroizi. În absența lor apare o insuficiență corticosuprarenală gravă care duce rapid la moarte. Defectul enzimatic este prezent și în gonade, în testicule și în ovare. În asemenea cazuri organele genitale se masculinizează incomplet — apare un pseudohermafroditism masculin.

Datele prezentate mai înainte demonstrează că un lanț metabolic poate fi întrerupt în mai multe puncte și că rezultatele sînt diferite, în funcție de hormonii absenți și de intensitatea proceselor compensatorii.

Cele mai multe dintre erorile de metabolism sînt consecința unei deficiențe enzimatice. S-au descoperit însă și cîteva tulburări caracterizate printr-o creștere a activității enzimatice, de pildă una dintre variantele glucozo-6-fosfat dehidrogenazei — Gd Hektoen — sau una dintre variantele colinesterazei serice — E. Cynthiana. În aceste cazuri nu apar nici un fel de tulburări clinice. Alteori, modificarea activității enzimatice antrenează supraproducția produsului final. Dacă produsul final este acidul uric, apare guta.

Produsul final al activității unei gene poate fi la fel de bine o proteină neenzimatică. Ea este formată, ca și enzimele, dintr-unul sau mai multe lanțuri polipeptidice, fiecare dintre ele fiind constituit dintr-un număr de aminoacizi uniți prin legături peptidice. Lanțurile pot fi similare sau deosebite. Astfel, hemoglobina adultului, despre care s-a mai vorbit, are două lanțuri alfa și două lanțuri beta. Multe proteine au în plus grupuri prostetice, care nu sînt constituite din aminoacizi și care au un rol extrem de important în funcționarea moleculei. Grupul prostetic al hemoglobinei este un hem, o structură porfirinică cu un atom de fier în centru. Molecula de hemoglobină are patru grupări hem, cîte unul atașat de fiecare lanț polipeptidic. Legătura se realizează între atomul de fier și un reziduu de histidină. Atomul de fier este cel care asigură transportul oxigenului în țesuturi.

Așa cum spuneam mai înainte, se cunosc pînă acum aproximativ 300 de hemoglobine anormale, marea lor majoritate fiind rezultatul substituirii unui singur aminoacid. Cîteva sînt rezultatul unei duble substituiri pe același lanț.

În tabelul 24 am inclus o parte dintre hemoglobinele umane anormale.

Teoretic vorbind, mutațiile pot antrena substituirea oricărui aminoacid. Tot teoretic sînt posibile 2 217 substituiri. Numărul real este însă mult mai mic, deoarece multe sînt letale.

Mutațiile au consecințe deci variabile. O parte dintre substituțiile de aminoacizi nu alterează sau modifică puțin integritatea structurală a moleculei de proteină. În alte cazuri însă substituția alterează structura proteinei și alterarea are consecințe clinice. În general, efectele substituirii depind de natura chimică a aminoacidului substituit și de locul pe care îl ocupă în moleculă.

1) Înlocuirea unui reziduu extern nu are efecte importante. Heterozigoții și cei mai mulți dintre homozigoți nu prezintă tulburări clinice. Fac excepție hemoglobinele S și C.

2) Substituirile care interesează structura monomerului hemoglobinic au urmări variate, minore sau relativ importante dacă alterează structura terțiară a moleculei.

3) Cele mai importante, prin consecințele lor, sînt substituirile care au loc la punctele de contact dintre monomeri sau dintre lanțurile polipeptidice și hem. Aceste substituții alterează funcțiile fiziologice ale moleculei și antrenează tulburări clinice — methemoglobinemie.

O categorie bine definită de tulburări ereditare se distinge prin absența sau prin funcția defectuoasă a unei proteine de transport. În această categorie intră, printre altele, rahitismul hipofosfatemic familial și boala Hartnup.

Boala Hartnup este relativ rară: 1/14 500 de nou-născuți. Se caracterizează printr-o aminoacidurie specifică — hiperalfaaminoacidurie care implică aminoacizi neutri și cu structură inelară. Tulburarea poate trece uneori neobservată. De obicei, purtătorii mutației în formă homozigotă prezintă tulburări psihice intermitente sau o înapoiere mintală moderată. După toate probabilitățile, mutația determină o deficiență a sistemului de transport prin membrana celulară a anumitor aminoacizi.

Tabelul 24

Hemoglobine anormale consecutive substituirii unui aminoacid

Hemoglobina anormală	Poziția	Substituirea aminoacidului	
		Hb A	→ Hb anormală
Variante ale lanțului alfa			
J. Toronto	5	Ala	Asp
J. Paris	12	Ala	Asp
J. Oxford	15	Gli	Asp
I	16	Lis	Glu
J. Medellin	22	Gli	Asp
Chad	23	Glu	Lis
G. Honolulu, G. Hong Kong G. Singapore	30	Glu	Gln
L. Ferrara, Umi, Kokura, Michigan I, Tagawa II, Yukuhashi II, Beilinson	47	Asp	Gli
Mexico	54	Gln	Glue
Shimonoseki, Hioshima	54	Gln	Arg
Norfolk, Kagoshima, Nishiki I, II, III	57	Gli	Asp
M. Boston, Leipzig 2, M. Osaka, M. Köln	58	His	Tir
N. Seattle	61	Lis	Glu
Ube II	68	Asp	His
J. Cape Town	92	Arg	Gln
O. Indonezia	116	Glu	Lis
Variante ale lanțului beta			
Tokuchi	2	His	Tir
S	6	Glu	Val
C	6	Glu	Lis
C-Harlem	6 73	Glu Asp	Val Asn
G. San Jose	7	Glu	Gli
Siriraj	7	Glu	Lis
Porto Alegre	9	Ser	Cis
E	26	Glu	Lis
Hammersmith	42	Phe	Ser
București	42	Phe	Leu
K-Ibadan	46	Gli	Glu
Hikari-Ube 3	61	Lis	Asn
Zürich	63	His	Arg
Sydney	67	Val	Ala
J. Iran	77	His	Asp
D. Ibadan	87	Thr	Lis
M. Hyde Park	92	His	Tir
Köln	98	Val	Met

Tabelul 24 (continuare)

Hemoglobina anormală	Poziția	Substituirea aminoacidului	
		Hb A	→ Hb anormală
Hope	136	Gli	Asp
Ranier	145	Tir	His
Variante ale lanțului gamma			
F Texas	5	Glu	Lis
F Galveston	6	Glu	Lis
Variante ale lanțului delta			
Sphakia	2	His	Arg
B_2	16	Gli	Arg
Flatbush	22	Ala	Glu

Se poate întîmpla la fel de bine ca o glandă să sintetizeze o cantitate adecvată de hormoni, funcționali, ca ei să fie transportați de proteine normale și totuși să nu aibă nici o acțiune periferică.

Testosteronul, de pildă, trebuie să străbată membrana celulară — a celulelor țintă — să pătrundă în nucleu și acolo să fie convertit într-un derivat activ, dihidrotestosteron. Procesul se desfășoară în mai multe etape.

Sub acțiunea unei enzime specifice, 5 α reductaza, testosteronul este transformat în dihidrotestosteron. Acesta se leagă de o proteină receptor și pătrunde în nucleu activînd genele specifice.

O deficiență a 5 α-reductazei, a receptorilor sau o anomalie ulterioară în mecanismul de acțiune al androgenilor antrenează o tulburare de sexualizare — o categorie de pseudohermafroditism masculin. Exemplul cel mai concludent îl constituie sindromul testiculului feminizant.

Sindromul este condiționat de o mutație recesivă situată pe cromozomul X, sau alternativ, dar este mai puțin probabil, de o mutație dominantă cu limitare de sex. Prima ipoteză este susținută și de faptul că aceeași mutație este prezentă și la alte specii de mamifere și că se transmite recesiv legat de sex (mutația Tfm la șoarece). Purtătorii mutației au cariotip 46, XY și gonade testicule, normale structural și funcțional. Ele secretă o cantitate adecvată de testosteron. Cu toate acestea, organele genitale externe sînt feminine, va-

ginul este mic iar derivatele mülleriene — uterul și trompele — lipsesc.

S-a izolat și un sindrom de feminizare testiculară incompletă — numit uneori pseudohermafroditism incomplet, tip 1 (Wilson și Goldstein, 1974). Ca și în forma precedentă, gonadele sînt testicule și derivatele mülleriene lipsesc; la pubertate apar fenomene de feminizare sau de masculinizare.

Sindromul este condiționat de aceeași anomalie, mai puțin severă însă, care condiționează și forma precedentă. Nu se știe dacă mutația este sau nu o alelă a mutației care condiționează rezistența totală la androgeni (vezi Maximilian și Ionescu, 1979).

Mutația condiționează rezistența la androgeni. Testosteronul pătrunde în celulă, este transformat în dihidrotestosteron, dar legarea lui de receptor este defectuoasă. Se admite că cel puțin două mutații distincte alterează receptorii: una blochează legarea de dihidrotestosteron, cealaltă codifică o proteină instabilă.

Bolnavii cu sindromul testiculului feminizant au fenotip feminin. S-a descoperit însă și o categorie de pseudohermafroditism masculin cu fenotip masculin determinată tot de o anomalie a receptorilor la androgeni. Spectrul clinic al acestei forme este surprinzător de larg — la o extremă sînt bărbați cu azoospermie, fenotipic normali, iar la cealaltă bărbați cu hipospadias și vagin fals. La pubertate ultimii prezintă uneori fenomene de feminizare.

Indiferent de intensitatea tulburărilor clinice, toți bolnavii au o deficiență parțială a receptorilor la androgeni. Deficiența este mai puțin importantă decît în sindromul testiculului feminizant.

După toate probabilitățile, anomalia este expresia unei mutații recesive situate pe cromozomul X. Nu se știe însă de ce aceeași mutație are efecte diferite. În aceeași familie coexistă bărbați infertili cu azoospermie și bărbați cu pseudovagin (Griffin-Wilson, 1980).

MANIFESTĂRILE GENELOR ÎN FORMĂ HETEROZIGOTĂ

Mutațiile recesive autozomale și legate de sex nu antrenează tulburări clinice evidente, deoarece, la heterozigoți, efectele biochimice sînt compensate de alela normală. Foarte rar totuși purtătorii unei mutații recesive prezintă mici anomalii sugestive. De pildă, heterozigoții pentru albinism au iris transparent și o diminuare a acuității vizuale, iar purtătorii mutației pentru condrodistrofia toracică asfixiantă au deformări toracice mai mult sau mai puțin accentuate. Un ultim exemplu: părinții care au copii cu sindromul Porak-Durante au sclerotice albastre.

Sindromul Laurence-Moon-Biedl-Bardet — sindrom caracterizat prin înapoiere mintală, obezitate, polidactilie și retinită pigmentară —, pare să fie condiționat de o singură mutație în formă homozigotă. Heterozigoții au una sau două dintre anomaliile caracteristice: obezitate, malformații scheletice minore, modificări retiniene atipice.

În hexadactilia recesivă, părinții copiilor afectați au o schiță de metacarpian suplimentar.

De cele mai multe ori heterozigoții sînt detectați biochimic.

Heterozigoții au o genă normală și o genă anormală. Prima asigură sinteza unei proteine normale. Ca atare la heterozigoți există o deficiență enzimatică parțială. Cum cantitatea de enzimă prezentă este suficientă pentru necesitățile organismului, heterozigoții nu manifestă nici un fel de tulburări clinice. Totuși ei au mici anomalii biochimice detectabile prin teste speciale. Un exemplu concludent îl constituie fenilcetonuria, o eroare de metabolism — în metabolismul aminoacizilor. Consecutiv unei mutații este tulburată sinteza fenilalanin-hidroxilazei. Ca urmare, fenilalanina nu mai este convertită în tirozină, tirozina devenind astfel un aminoacid esențial. În absența hidroxilazei, metabolismul fenilalaninei continuă pe alte căi. Rezultă, așa cum se vede din fig. 46, o acumulare a fenilalaninei, îndeosebi, și a produșilor ei metabolici: fenilacetilglutamina și acidul o-hidroxifenilacetic. Acești compuși sînt toxici numai în cantități excesive. Concentrația plasmatică a fenilalaninei crește de la 1 mg la 100 ml la 10—60 mg la 100 ml. Datorită acestor modificări apar tulburările clinice, dominate de o înapoiere mintală profundă (coeficientul de inteligență coboară sub 30).

La heterozigoți, nivelul fenilalaninei sangvine este ceva mai mare decît la homozigoții normali. Cum însă variațiile individuale normale sînt considerabile, separarea heterozigoților este incertă. Mai sigur este testul de încărcare la fenilalanină. După administrarea unei cantități definite de fenilalanină, nivelul ei sangvin crește mai repede și coboară mai

permanent. De asemenea, atacurile de paralizie periodică devin mai rare sau, uneori, încetează, cu timpul.

Manifestările clinice ale bolilor ereditare sînt extrem de variate. În funcție de severitatea tulburărilor, bolile ereditare au fost împărțite în patru grupe (Stanbury și col., 1968):

1) Asimptomatice și fără consecințe. Cîteva erori de metabolism nu au nici un răsunet clinic. Ele pot fi considerate simple variante. Așa sînt pentozuria, β-aminoizobutiric aciduria sau paralbuminemia (bialbuminemia). Ultima, o anomalie a sintezei proteinelor, se caracterizează prin prezența a două tipuri de albumină: una normală, controlată de o genă dominantă, și una — de fapt, mai multe variante — care migrează electroforetic mai lent sau mai rapid decît albumina normală. Și aceste variante sînt condiționate de gene dominante. S-au descris și variante specificate de gene recesive;

2) Simptomatice în condiții favorabile. Un număr mic de boli ereditare devin simptomatice în circumstanțe particulare. Purtătorii uneia dintre mutațiile care diminuează activitatea glucozo-6-fosfat-dehidrogenazei fac anemie hemolitică după anumite medicamente;

3) Boli ereditare cu evoluție moderată. În această grupă intră tulburările care nu reduc media de viață: diabetul zaharat sau acatalazia;

4) Boli ereditare cu manifestări severe. În acest grup intră numeroase erori de metabolism, precum și multe sindroame plurimalformative.

Durata bolii are deseori un caracter individual. Hiperoxaluria poate debuta timpuriu și moartea survine în cîțiva ani sau poate debuta mai tîrziu și evoluția se prelungește uneori decenii.

HETEROGENITATEA GENETICĂ

Sub numele de heterogenitate genetică a fost inclusă diversitatea manifestărilor chimice, metabolice și/sau a caracterelor fizice controlate de o singură sau eventual de mai multe gene specifice. Explicația clară a acestui fenomen are implicații deosebit de importante în genetica medicală.

Foarte mult timp s-a crezut că tulburările genetice relativ similare sînt expresia aceleiași mutații. Este adevărat că diversitatea individuală și cea interfamilială pot fi lămurite în unele cazuri dacă se utilizează conceptele de penetranță și expresi-

vitate. Dar multe observații rămîneau fără explicație. Pe măsură însă ce numărul datelor s-a amplificat, a devenit mai clar că același sindrom genetic este în realitate condiționat de mutații independente. Ca atare, el poate fi divizat în noi entități, fiecare prezentînd particularități biochimice și clinice. Mutațiile care condiționează tulburări similare pot surveni: pe același locus sau pe loci diferiți, afectînd fie aceeași enzimă sau proteină, fie enzime sau proteine diferite.

ALELE MUTANTE DIFERITE PE ACELAȘI LOCUS

Aceeași genă poate suferi mutații multiple. Consecințele lor pot fi similare sau deosebite clinic. Astfel, o parte dintre hemoglobinopatii determină apariția unei anemii hemolitice. Toate hemoglobinele anormale cu asemenea urmări sînt consecința unor mutații pe lanțul β. Dacă n-ar fi fost posibil studiul secvenței aminoacizilor hemoglobinei, atunci toate anemiile de acest fel ar fi fost considerate expresia unei singure mutații.

Există, de asemenea, cel puțin 20 de variante de deficiență a glucozo-6-fosfat-dehidrogenazei care favorizează apariția unei anemii hemolitice.

Tradițional se consideră că un deficient pentru o enzimă specifică este homozigot pentru o alelă dată. Realitatea este însă uneori mai complexă. Fiecare dintre părinții homozigotului poate fi heterozigot pentru o alelă distinctă. În acest fel copilul a moștenit două alele deosebite, fiecare antrenînd o deficiență enzimatică proprie.

Manifestările clinice pot astfel varia de la un bolnav la altul.

ALELE MUTANTE PE LOCI DIFERIȚI

Hemoglobina, așa cum s-a arătat mai înainte, este formată din lanțuri polipeptidice controlate de gene diferite. Fiecare dintre aceste gene poate suferi mutații și rezultatele sînt deseori similare, deoarece este afectat același produs final.

Firește, și lanțurile metabolice pot fi întrerupte în puncte diferite de mutații situate pe loci distincți. Datorită blocului metabolic, tulburările clinice vor fi similare sau relativ diferite. Exemplul cel mai binecunoscut în patologia umană îl constituie mucopolizaharidozele — un grup de boli ereditare

caracterizat biochimic printr-o anomalie a metabolismului mucopolizaharidelor —, substanțe compuse din lanțuri lungi de aminoacizi cu polizaharide prinse la anumite intervale. În urma unei deficiențe enzimatice are loc acumularea intracelulară și/sau eliminarea anormală de polizaharide.

Sînt afecțiuni rare: 1/150 000, mucopolizaharidozele de tip II, și 1/300 000, mucopolizaharidozele de tip IV.

Mult timp s-a crezut că toți copiii cu o anomalie în metabolismul acestor substanțe prezintă un tablou clinic asemănător. Ulterior s-a observat că există mai multe tipuri, fiecare cu particularitățile lui clinice și biochimice (tabelul 26).

Tabelul 26

Mucopolizaharidozele (după Battie și Hehunstre, 1979)

Tip de mucopolizaharidoză		Sinonim	Mucopolizaharide acide acumulate	Deficit enzimatic
I	—H	sindromul Hurler	heparan sulfat și dermatan sulfat	α-L-iduronidaza
	—S	sindromul Scheie		
	—HS	sindromul Hurler-Scheie		
II	—A	sindromul Hunter sever	heparan sulfat și dermatan sulfat	L-idurono sulfat sulfataza
	—B	sindromul Hunter ușor		
III	—A	sindromul Sanfilippo A	heparan sulfat	heparan sulfat N sulfataza
	—B	sindromul Sanfilippo B	heparan sulfat	α-N-acetil-glucozoamino
	—C	sindromul Sanfilippo C	heparan sulfat	α-glucozoaminidaza
IV		sindromul Morquio	cheratan sulfat	N-acetil-hexozamino-6-sulfat
VI	—A	sindromul Maroteaux-Lamy sever	dermatan sulfat	N-acetil-hexozamino-4-sulfat sulfataza
	—B	sindromul Maroteaux-Lamy ușor		
VII			dermatan sulfat heparan sulfat chondroitin sulfat	β-glucuronidaza

Așa cum se remarcă din această schemă, tipul V este liber.

Cu excepția sindromului Hunter care se transmite recesiv legat de sex, toate celelalte tipuri se transmit recesiv autozomal.

Mucopolizaharidozele prezintă suficient de multe similitudini, dar și multe diferențe:

— Sindrom dismorfic: hipotrofie staturală marcată, malformații faciale, hernie ombilicală, contractură musculară în sindroamele Hurler, Hunter, Morquio, Maroteaux-Lamy.

— Înapoierea mintală este o caracteristică a sindromului Hurler, a sindromului Hunter (forma gravă), a sindromului Sanfilippo. Este absentă însă în sindromul Scheie, în sindromul Morquio și în sindromul Maroteaux-Lamy.

— Disostozele sînt inconstante; modificările vertebrelor lombare și ale coastelor sugerează existența sindromului Maroteaux-Lamy.

Diagnosticul de certitudine este adus de investigațiile biochimice.

Sindromul Ehlers-Danlos este consecința unei anomalii a țesutului conjunctiv. Clinic se distinge printr-o remarcabilă laxitate ligamentară, prin extensibilitate dermală și prin fragilitate tisulară. Inițial s-a crezut că sindromul este condiționat de o singură mutație dominantă autozomală. Ulterior s-au separat clinic și biochimic nouă forme.

Tabelul 27

Sindromul Ehlers-Danlos (parțial după Popescu, 1980)

Tip	Mod de transmitere	Defect primar
I-grav	AD	?
II-moderat	AD	?
III-benign	AD	?
IV-echimotic sau arterial	AR : AD	sinteză deficientă a colagenului de tip III
V-legat de sex	Recesiv legat de sex	deficiența lizil-oxidazei
VI-ocular	AR	deficiența procolagenlizil-hidroxilazei
VII-artrocalaza multiplă congenitală	AR	deficiența procolagenproteazei
VIII-?	?	deficit de alfa-1-antitripsină
IX	AR	anomalie a fibronectinei

Fiecare dintre cele nouă tipuri prezintă particularități clinice. Caracteristicile primelor trei tipuri sînt sugerate chiar de numele lor. În tipul IV predomină fragilitatea vasculară: hematoame, echimoze. În tipul V se adaugă o cardiopatie congenitală iar cel următor se distinge prin anomalii oculare: dezlipire de retină, cecitate. În tipul VII hiperlaxitatea articulară și extensibilitatea cutanată sînt frapante. În tipul VIII se asociază și emfizemul pulmonar. Ultimul tip se distinge printr-o agregare a trombocitelor corectabilă prin adăugare de plasmă normală. Defectul a fost atribuit unei anomalii structurale a fibronectinei, glicoproteină adezivă a țesutului conjunctiv care are un rol major în interacțiunea trombocitelor cu colagenul.

Eliptocitoza constituie un exemplu la fel de edificator. Este o anomalie ereditară a formei eritrocitelor; tulburările clinice sînt inconstante: uneori lipsesc, alteori sînt reduse; foarte rar apare o anemie extrem de severă. Mult timp s-a crezut că toate cazurile, în ciuda variabilității clinice, pot fi incluse în aceeași categorie. Ulterior s-au diferențiat două grupe: o grupă condiționată de mutație specifică în linkage cu sistemul Rh și o grupă în care *linkage*-ul lipsește.

Numărul exemplelor s-ar putea multiplica: polipoza intestinală, albinismul, condrodistrofia, surditatea, retinita pigmentară sau cretinismul cu gușă sînt eterogene. Este cert că numărul lor va crește paralel cu ameliorarea tehnicilor de investigație. Elejaide și Opitz (1977) afirmau că toate bolile ereditare sînt eterogene.

Uneori, probabil foarte rar, aceeași mutație poate antrena tulburări diferite.

Harris (1975) discută din acest unghi efectele unei proteine serice: α_1-antitripsina. Proteina sintetizată în ficat inhibă activitatea unor enzime proteolitice, printre care și tripsina. Locusul care specifică α_1-antitripsina se numește Pi. Pe acest locus apar mai multe alele, toate antrenînd o deficiență enzimatică. Deficiența poate fi determinată de o anomalie structurală a enzimei, așa cum se observă la purtătorii mutației Pi^{z}, sau de o diminuare a sintezei, așa cum există la purtătorii mutației Pi^{o}.

Deficiența enzimei apare relativ frecvent în Europa: 1/1 500—1/3 000 de nou-născuți. 10—20% dintre homozigoții $Pi^{z}Pi^{z}$ fac hepatită neo-natală, deseori gravă. Dintre cei care nu prezintă nici o tulburare în copilărie 15—30% vor dezvolta emfizem pulmonar. Mai mult de jumătate nu vor prezenta niciodată nici o tulburare. Explicația este încă necunoscută.

PLEIOTROPISM

O serie de tulburări ereditare se caracterizează prin malformații multiple în țesuturi și organe diverse. Ele se transmit împreună, deoarece sînt condiționate de o singură mutație genică. Aceasta înseamnă că uneori genele pot avea efecte multiple. Fenomenul se numește pleiotropism. În genetica medicală se deosebesc două forme:

— Pleiotropismul pur sau în mozaic. Mutația acționează intracelular în momente diferite ale embriogenezei, în țesuturi sau primordii independente. Deși malformațiile nu par înrudite, ele sînt totuși expresia unei singure tulburări genetice;

— Pleiotropism relațional; în această formă malformațiile au o cauză comună — un defect al țesutului conjunctiv de pildă, ca în sindromul Marfan, sindrom condiționat de o mutație dominantă autozomală, caracterizat prin înălțime mare, anomalii oculare și necroză a aortei.

În alte cazuri manifestările clinice sînt consecința unei mutații care își exercită efectele extracelular — printr-o singură anomalie hormonală sau hematologică, de exemplu.

*

Fără îndoială, marile progrese ale biochimiei, ale epidemiologiei sau ale citogeneticii vor da o nouă dimensiune geneticii medicale. În deceniile următoare se vor identifica numeroase noi sindroame genetice.

În același timp se va stabili modul de transmitere al sindroamelor care nu satisfac criteriile eredității mendeleene. Este evident că în etapa actuală este imposibil să se precizeze modul de transmitere a mutațiilor letale, a mutațiilor care antrenează sterilitatea purtătorilor sau a mutațiilor care determină o înapoiere mintală mai mult sau mai puțin severă, incompatibilă oricum cu căsătoria.

Este apoi sigur că pe măsură ce tehnicile de citogenetică se vor ameliora va crește și numărul sindroamelor cromozomale și implicit și frecvența copiilor citogenetic anormali. Multe sindroame plurimalformative își vor găsi astfel o explicație certă.

Foarte probabil vom înțelege mai bine și ceea ce numim acum ereditate poligenică.

DIVERSITATEA BIOCHIMICĂ

Este evident că variabilității genetice îi corespunde o diversitate biochimică. În toate populațiile există un număr oarecare de alele, multe dintre ele alterînd caracteristic activitatea enzimei pe care o controlează. Uneori, consecutiv unei mutații, apare o deficiență completă sau aproape completă a activității enzimatice, deficiență care are drept rezultat perturbarea unui lanț metabolic. Alteori deficiența enzimatică are consecințe minore, poate trece neobservată și își manifestă efectele în situații cu totul particulare, de pildă după administrarea unui medicament.

Acea parte a geneticii care studiază variantele genetice care antrenează un răspuns anormal la medicamente sau, într-un sens apropiat, care sînt descoperite deoarece antrenează un răspuns anormal la medicamente se numește farmacogenetică (Vogel, 1959). Farmacogenetica studiază și consecințele clinice ale răspunsului la medicamente, prevenirea și tratarea lor. Ea nu cercetează însă condițiile în care tulburările apar spontan, dar care pot fi favorizate de medicamente. S-a sugerat ca farmacogenetica să studieze și efectele teratogene și mutagene induse de medicamente.

Structura biochimică a medicamentelor determină efectele lor farmacologice. Din momentul pătrunderii lor în organism pînă în cel al eliminării, medicamentele suferă o serie de transformări în care sînt implicați factori determinați genetic: enzime, proteine funcționale.

Inițial medicamentele sînt absorbite. Apoi sînt transportate de proteinele serice, îndeosebi de fracțiunea albuminică, și secundar de eritrocite, trec în spațiile intracelulare și se acumulează în diverse organe.

Medicamentele sînt active fie în formă originară, fie în formă secundară, prin metaboliții lor, doar dacă sînt desfă-

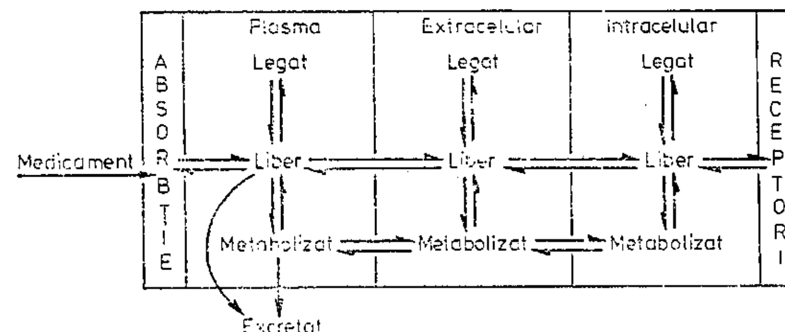


Fig. 53. Acțiunea medicamentelor, distribuția, metabolismul și excreția lor (după Yaffe și Black, 1966).

cuți de proteine. Conversiunea moleculară a medicamentelor este controlată de enzime sau de lanțuri de enzime specifice. Foarte puține medicamente, antibioticele de pildă, își manifestă efecte în forma lor inițială. Dar, datorită eterogenității genetice, răspunsul la medicamente prezintă variații individuale mai mult sau mai puțin importante (fig. 53).

Răspunsul la medicamente este astfel controlat, în primul rînd, de factori genetici. Rolul eredității a fost demonstrat, printre altele, de cercetările intensive făcute pe serii de gemeni. Vessel și colab. (1971) au urmărit scăderea concentrației plasmatice a fenilbutazonei, a dicumarolului, a antipirinei și etanolului la gemenii monozigoți și dizigoți. Așa cum era de așteptat, timpul de înjumătățire a medicamentelor în plasmă este similar la monozigoți și deosebit la dizigoți. S-a conchis că, cel puțin pentru cele patru substanțe testate, degradarea este controlată aproape exclusiv ereditar. În metabolismul altor substanțe intervine și mediul.

Dacă se studiază o serie de parametri (nivelul sangvin, timpul de înjumătățire, nivelul sangvin și urinar al compușilor intermediari) într-o grupă suficient de mare de indivizi neselecționați se obține, pentru unele medicamente, o curbă de tip gaussian. Asemenea curbe, unimodale, sînt condiționate multifactorial. Aceasta înseamnă că metabolismul substanței este condiționat și genetic și mezologic.

Alteori se observă existența unor curbe bimodale, trimodale sau cu mai multe vîrfuri. Ele reflectă prezența mai multor genotipuri în populație. În funcție de natura genelor implicate, se deosebesc patru genotipuri, caracterizate prin:

— prezența unei enzime (proteine) structural anormale, inactivă sau cu activitate considerabil redusă;

— prezența unei proteine structural modificate, cu activitate catalitică aproape normală, dar cu stabilitate diminuată;

— diminuarea ratei de sinteză sau foarte rar creșterea ratei de sinteză;

— alterarea activității enzimatice datorită unei anomalii a activatorilor sau inhibitorilor specifici.

După Sparkes și Wright (1974) se pot identifica următoarele forme de răspuns la medicamente:

— descoperirea unui caracter genetic prin administrarea unui medicament;

— apariția sau exacerbarea unei boli;

— boli cauzate de medicamente;

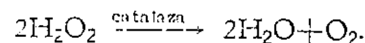
— boli genetice cu răspuns neobișnuit la medicamente;

— rezistența la medicamente determinată genetic.

DETECTAREA UNUI CARACTER GENETIC PRIN ADMINISTRAREA DE MEDICAMENTE

ACATALAZIA

Catalaza este o enzimă extrem de răspîndită. A fost descoperită la plante și la animale, în aproape toate țesuturile, organele și fluidele organismului. Este formată dintr-un apoferment specific și un coferment care conține fier, hemina. Catalizează hidroliza peroxizilor, indiferent dacă sînt de origine endogenă sau exogenă:



$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{catalaza}} 2H_2O + O_2.$$

În hematii, unde catalaza se găsește în cantități mari, ea funcționează pe același principiu, foarte rapid, așa încît peroxidul de hidrogen nu are suficient de mult timp pentru a oxida hemoglobina. Are astfel un rol protector, împiedicînd formarea methemoglobinei.

Deficiența enzimatică, acatalazia, a fost descoperită întîmplător. Spălînd o plagă cu peroxid de hidrogen, otorinolaringologul japonez Takahara a observat că în loc să se formeze bule, sîngele a devenit negru cenușiu. Takahara a bănuit existența unei deficiențe a catalazei. Bănuiala a fost confirmată. Ulterior s-a demonstrat că deficiența enzimatică era prezentă la alți nouă membri ai familiei probandului.

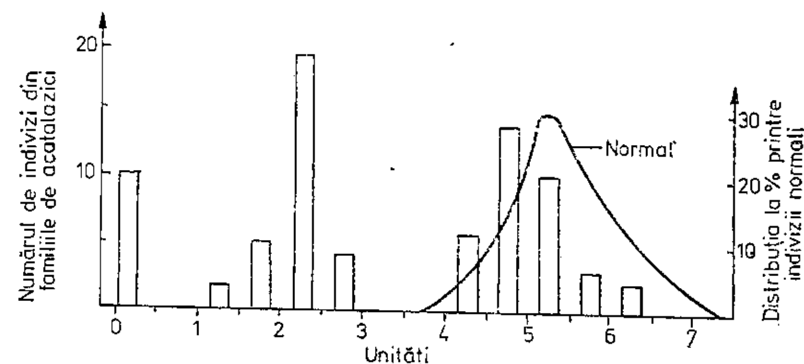


Fig. 54. Activitatea catalazei sangvine printre membrii familiilor cu acatalazie și printre indivizii normali (după Evans, 1965).

Deficiența enzimatică este condiționată de o mutație recesivă în formă homozigotă. Heterozigoții au hipocatalazie: activitatea enzimatică este doar 50% din activitatea enzimei homozigoților normali (fig. 54).

Mutația pare să fie relativ rară. Pînă acum s-au descris mai multe variante genetice. În Elveția, Aebi și colab. (1961, 1962) au studiat mai multe cazuri. Indivizii homozigoți prezintă două particularități: nu au leziuni oro-nazale; activitatea catalazei eritrocitare constituie 0,1—1,3% din activitatea enzimei normale.

APARIȚIA SAU EXACERBAREA UNOR BOLI

DEFICIENȚA GLUCOZO-6-FOSFAT-DEHIDROGENAZEI

Glucozo-6-fosfat-dehidrogenaza catalizează oxidarea glucozo-6-fosfat în 6-fosfo-gluconat. Enzima este formată din subunități identice și are greutatea moleculară de 230 000—240 000. Ea este controlată de o genă legată de sex.

Enzima normală cu particularități bine definite a fost denumită B. Electroforetic migrează lent. Numeroase cercetări efectuate în populațiile contemporane de pretutindeni au dus la descoperirea a cel puțin 100 de variante. Cu o singură excepție, toate se disting printr-o reducere a activității specifice. Sub raport medical, două prezintă o importanță deosebită:

GdA—, întîlnită în populațiile de culoare, și Gd mediteraneană.

Între cele două enzime există diferențe majore. Astfel, nivelul enzimei în eritrocitele bărbaților cu varianta „Neagră" este 15—20% din nivelul enzimei normale, pe cînd în varianta mediteraneană nu depășește 3—4%. Apoi în varianta GdA— deficiența este prezentă numai în eritrocite; în celelalte celule, în leucocite, în celulele hepatice sau în celulele din piele activitatea enzimei este normală sau ușor diminuată. În varianta mediteraneană deficiența există și în eritrocite și în leucocite. În sfîrșit, în varianta GdA— activitatea este normală în eritrocitele tinere, dar scade mai rapid decît activitatea enzimei normale în eritrocitele bătrîne; în varianta mediteraneană activitatea enzimei este redusă chiar în eritrocitele tinere.

Cercetările electroforetice au relevat încă un aspect important, și anume că în populațiile de culoare există trei clase de bărbați:

— cu varianta normală B;

— cu varianta A, care migrează mai rapid decît varianta precedentă și care are o activitate specifică puțin mai mică decît a variantei B;

— cu varianta A—, care are motilitate de tip A și activitate specifică considerabil mai redusă decît a variantei normale (fig. 56).

Există deci trei genotipuri printre bărbați (ei sînt hemizigoți) — Gd^B, Gd^A și Gd^{A-}, și șase genotipuri printre femei: Gd^B Gd^B, Gd^A Gd^A, Gd^{A-} Gd^{A-}, Gd^B Gd^A, Gd^B Gd^{A-}, Gd^{A-} Gd^{A-}.

Varianta mediteraneană are motilitatea variantei B.

Cele patru variante discutate mai înainte sînt controlate de patru alele. După toate probabilitățile, variantele GdA, GdA— și Gd mediteraneană se deosebesc de varianta B

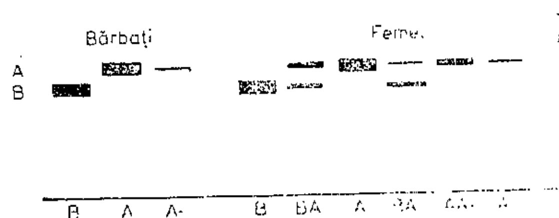


Fig. 55. Diagrama componentelor electroforetice ale G-6-PD eritrocitare la negrii cu fenotipuri diverse (după Harris, 1975).

printr-un singur aminoacid. Yoshida (1967) a demonstrat că varianta A a rezultat din varianta B prin înlocuirea asparaginei cu acid aspartic.

Varianta A- este frecventă printre negri. Dar chiar și printre ei există diferențe mai mult sau mai puțin importante. De pildă, printre negrii din S.U.A., 15—20% au varianta GdA și 10—15% varianta GdA-. Printre bărbații din Nigeria 22% au varianta GdA și 22% varianta GdA-. Printre femeile de culoare din S.U.A., 18% sînt heterozigote și 1% homozigote anormale.

Mutația Gd mediteraneană este frecventă și foarte frecventă în țările din bazinul Mării Mediterane și în Orientul Apropiat: 3—37% în Sardinia; 6—19% în Grecia și 70% printre kurzii de origine evreiască.

Avînd în vedere rolul major pe care îl joacă G-6-PD în metabolismul glucozei, este evident că deficiența enzimatică poate avea efecte negative. Unele variante, Chicago, Eyssen sau Ohio, toate trei caracterizate printr-o activitate enzimatică redusă, antrenează anemie hemolitică în absența oricărui factor precipitant.

Varianta comună a negrilor (GdA-) determină tulburări clinice numai dacă purtătorii primesc anumite medicamente, îndeosebi primaquină, un medicament antimalaric. Purtătorii variantei mediteraneene fac anemie hemolitică după un număr mai mare de medicamente: sulfonamide, fenacetin, antipirină, acid acetilsalicilic etc. Aceleași tulburări apar după ingestia boabelor unui soi de fasole, *Vicia faba*, sau chiar după inhalarea polenului aceleiași plante (favism). Se presupune că apariția favismului nu este rezultatul exclusiv al deficienței enzimatice. Ipoteza pornește de la două observații:

— În Karditsa (Grecia) incidența deficienței G-6-PD este de 27% și cu toate acestea favismul apare rar. În Corfu, unde frecvența anomaliei enzimatice este 5%, favismul este comun;

— În familiile în care deficiența enzimatică a fost descoperită pornind de la un proband cu favism, favismul este semnificativ mai frecvent decît în familiile în care probandul avea o deficiență enzimatică, dar nu avea favism. Stamatoyannopoulos și col. (1966), care au subliniat aceste aspecte, presupuneau că susceptibilitatea la favism ar fi favorizată de o genă autozomală în stare heterozigotă.

De asemenea, icterul neo-natal este mai frecvent printre copiii cu o deficiență enzimatică. Se pare că apariția icteru-

lui reclamă intervenţia unui al doilea factor genetic. Copiii care nu au acest factor nu fac icter.

Al doilea exemplu îl constituie porfiria acută, o eroare în metabolismul porfirinei, caracterizată prin eliminarea excesivă a precursorilor porfirinei — acidul δ-aminolevulinic şi porfobilinogen —, iar sub raport clinic prin tulburări neurologice. Boala este condiţionată de o mutaţie dominantă autozomală rară: 1,5/100 000.

Tulburarea apare în jurul vîrstei de 18—20 de ani şi se distinge prin apariţia unor atacuri acute care durează zile sau săptămîni. Atacurile pot fi provocate şi de medicamente, printre care şi de barbiturice sau sulfonamide.

BOLI DETERMINATE DE MEDICAMENTE

DEFICIENŢA PSEUDOCOLINESTERAZEI

Pseudocolinesteraza este o enzimă sintetizată îndeosebi în ficat şi prezentă în concentraţii mari în ser, ficat, inimă, rinichi şi piele. Ea hidrolizează esterii colinei care conţin diferiţi acizi aromatici şi alifatici. Este o glicoproteină acidă, cu greutatea moleculară de 350 000.

Importanţa ei clinică a devenit evidentă după introducerea în practică a suxamethonium-ului, relaxant muscular cu acţiune scurtă, constituit din două molecule de acetil-colină unite prin grupele lor acetat. În mod obişnuit medicamentul este hidrolizat rapid de către colinesterazele serice. Cataliza are loc în două etape:

succinil dicolină $\xrightarrow{\text{pseudocolin-esteraza}}$ succinil monocolină + colină;

succinil monocolină $\xrightarrow{\text{pseudocolin-esteraza}}$ succinat + colină.

Marea majoritate a bolnavilor care primesc suxamethonium fac o apnee scurtă, de cîteva minute. Destul de rar, după o doză normală apar paralizii musculare şi o apnee de două ore sau mai mult.

Cercetările făcute de Bourne şi colab. (1952) au relevat că indivizii sensibili au constant un nivel coborît de colinesterază serică. Studiile familiale ulterioare au demonstrat că indivizii sensibili sînt homozigoţi pentru o genă care în stare heterozigotă antrenează o reducere moderată a activităţii aceleiaşi enzime. Mai tîrziu s-a văzut că purtătorii mutaţiei au, de fapt, o enzimă cu proprietăţi atipice, de aceea enzima a fost numită pseudocolinesteraza atipică. S-a conturat astfel ideea că există trei genotipuri: homozigoţi normali, heterozigoţi şi homozigoţi anormali. Dar deoarece nu se putea estima exact activitatea enzimatică nu se puteau diferenţia clar nici cele trei genotipuri.

În 1955, Kalow şi Lindsay au remarcat că enzima normală este mai sensibilă decît enzima anormală la acţiunea unui mare număr de inhibitori. Unul dintre ei este un anestezic local — dibucaina.

La o concentraţie de 10^{-5} M dibucaină, activitatea enzimei normale scade cu 80%, iar a variantei atipice cu numai 20%. Numărul de dibucaină reprezintă astfel procentul de inhibiţie prin dibucaină. Cu ajutorul acestei metode s-au identificat primele alele: E_1^u (E_1 — prima esterază descoperită; u — *usual*=obişnuit) şi E_1^a — enzima atipică.

Cu toate acestea, concluzia că variaţiile colinesterazei sînt condiţionate doar de două alele nu explică toate faptele observate. Pentru a explica excepţiile s-a pornit de la premisa, corectă genetic, că homozigoţii $E_1^aE_1^a$ trebuie să provină din părinţi cu aceeaşi genă şi să aibă copii cu aceleaşi alele. De cele mai multe ori aşa se întîmplă. Dar s-au raportat familii în care unul dintre părinţii sau unul dintre descendenţii homozigoţilor E^aE^a au numai enzima obişnuită. Pentru a explica acest fenomen s-a postulat existenţa unei noi alele E_1^s (s — *silent*=tăcut) incapabile să asigure sinteza unei enzime funcţionale. Ca atare, heterozigoţii $E_1^aE_1^s$ vor forma numai enzima atipică, iar heterozigoţii $E_1^uE_1^s$ numai enzima obişnuită. În spiritul acestei ipoteze ar exista şi homozigoţi $E_1^sE_1^s$ incapabili să sintetizeze colinesteraza serică şi foarte sensibili la suxamethonium. Mai tîrziu s-a demonstrat că ei există.

Ulterior, cu ajutorul altei substanţe care inhibă activitatea colinesterazei serice, florura de sodiu, s-a identificat o nouă alelă, E_1^f, care condiţionează sinteza unei variante rezistente la fluorura de sodiu. Enzima sintetizată are o activitate mai mică decît a enzimei obişnuite, dar mai mare decît a enzimei atipice.

Prin metodele menţionate se pot identifica 10 genotipuri: 4 homozigoţi şi 6 heterozigoţi. Ei au o sensibilitate inegală faţă de suxamethonium.

Deci trei genotipuri au o sensibilitate marcată faţă de suxamethonium şi trei au o sensibilitate moderată.

Tabelul 28

Polimorfismul pseudocolinesterazelor și sensibilitatea la suxamethonium

Genotip	Fenotip	Sensibilitatea la suxamethonium
Homozigoți	$E_1^u E_1^u$	rezistent
	$E_1^a E_1^a$	sensibilitate marcată
	$E_1^f E_1^f$	sensibilitate moderată
	$E_1^s E_1^s$	sensibilitate marcată
Heterozigoți	$E_1^u E_1^a$	rezistent
	$E_1^u E_1^f$	rezistent
	$E_1^u E_1^s$	rezistent
	$E_1^a E_1^f$	sensibilitate moderată
	$E_1^a E_1^s$	sensibilitate marcată
	$E_1^f E_1^s$	sensibilitate moderată

Studiul electroforetic al colinesterazei serice a permis identificarea mai multor noi izozime: C_1—C_2—C_3—C_4. Relativ rar apare o componentă suplimentară — C_5. Această componentă este condiționată de o genă situată pe un locus distinct — E_2. Indivizii cu C_5 au o activitate enzimatică mai mare decît indivizii fără aceeași componentă.

Astfel, nivelul colinesterazei serice este controlat de cel puțin doi loci. Din combinația diverselor alele prezente pe acești loci rezultă sensibilitatea față de suxamethonium.

Dintre alelele anormale una singură este frecventă — E_1^a. Frecvența medie a heterozigoților, în cele mai multe dintre populațiile cercetate, este de aproximativ 3,8%. Aceasta înseamnă că frecvența genei este de 1,9%.

Varianta E_1^f are o frecvență mult mai mică.

INACTIVAREA IZONIAZIDEI

Izoniazida este o substanță larg folosită în tratamentul tuberculozei. După administrare, ea este acetilată în ficat de către acetil-transferază. În această formă este mai puțin toxică.

Dacă se administrează o doză standard și dacă după cîteva ore se măsoară nivelul sangvin se constată că ea are o

distribuție bimodală. O parte dintre bolnavi au o concentrare mică; ei au eliminat în acest timp mai mult de 11% din cantitatea administrată. Cealaltă parte prezintă nivel plasmatic mai mare, deoarece ei au eliminat doar 6—7% din cantitatea primită. Primii sînt inactivatori rapizi iar ultimii sînt inactivatori lenți. Inactivatorii rapizi elimină prin urină o mare parte din medicament sub formă acetilată iar inactivatorii lenți sub formă neacetilată.

Capacitatea de a metaboliza rapid sau lent izoniazida este condiționată genetic. Inactivatorii lenți sînt homozigoți pentru o alelă care diminuează sinteza acetil-transferazei hepatice. Inactivatorii rapizi sînt heterozigoți sau homozigoți normali.

După descoperirea celor două categorii de inactivatori s-a studiat semnificația clinică a ritmului de inactivare. Conform concluziilor lui Ellard și colab. (1972), dacă doza administrată este corectă efectele terapeutice sînt similare. Dacă doza administrată este suboptimală s-ar putea ca rezultatele terapeutice să fie inegale. Este sigur însă că inactivatorii lenți dezvoltă mai des nevrită periferică decît inactivatorii rapizi. Complicația nu mai apare dacă se administrează simultan piridoxină (vitamină B_6).

Cele două alele au o distribuție geografică particulară, așa cum se vede din tabelul 29.

Tabelul 29

Frecvența alelelor care determină inactivarea rapidă sau lentă a izoniazidei în diverse populații (după Harris, 1975)

Populație	Alela pentru inactivare rapidă	Alela pentru inactivare lentă
Albi (S.U.A.)	0,28	0,72
Negri (S.U.A.)	0,27	0,73
Japonezi	0,71	0,29
Ainu	0,69	0,31
Coreeni	0,67	0,33
Thai	0,46	0,54
Indieni-din sud	0,22	0,78
Indieni (Madras)	0,18	0,82
Eschimoși (Alaska)	0,54	0,46

Așa cum se remarcă din acest tabel, alela pentru inactivarea lentă a izoniazidei este mult mai rară în populațiile mongole decît în cele albe sau negre.

Semnificaţia acestor date este incertă. Motulsky (1963) presupunea că actualul polimorfism ar putea fi expresia selecţiei naturale în anumite condiţii de mediu. Enzima de acetilare ar fi favorizat detoxifierea unor substanţe alimentare prezente cîndva în dieta populaţiilor mongole.

BOLI GENETICE CARE RĂSPUND NEOBIŞNUIT LA MEDICAMENTE

În cele mai multe tulburări ereditare administrarea de medicamente nu antrenează nici un fel de modificări patologice. Excepţiile cunoscute sînt puţine.

Astfel, bolnavii cu fenilcetonurie sintetizează mai puţine catecolamine (adrenalină şi noradrenalină) decît indivizii normali. La aceiaşi bolnavi există şi o alterare a receptorilor simpatici. Se pare că această alterare explică creşterea accentuată a presiunii sistolice după administrarea de noradrenalină.

REZISTENŢA GENETICĂ LA MEDICAMENTE

Rezistenţa la medicamente poate avea o bază genetică simplă. Exemplul cel mai concludent îl constituie rezistenţa unor iepuri la atropină, alcaloid extras din rădăcinile sau din seminţele de beladonă; este folosit în medicină pentru proprietăţile lui antispasmodice şi anticolinergice.

Încă din 1852 s-a observat că unii iepuri pot ingera, fără nici un fel de tulburări, frunzele de beladonă. Aproape un secol mai tîrziu s-a demonstrat că rezistenţa la atropină este condiţionată de o singură genă. Animalele rezistente sînt purtătoarele unei gene care asigură sinteza atropin-esterazei. Nivelul enzimei este de două ori mai mare la animalele homozigote decît la cele heterozigote. La animalele care nu au gena specifică, nivelul enzimei este zero.

In patologia umană se cunosc extrem de puţine cazuri similare. Unul dintre ele este rahitismul vitamino-rezistent. Copiii cu acest sindrom au aceleaşi anomalii scheletice ca şi copiii cu rahitism secundar carenţei alimentare în vitamină D_3. Spre deosebire de rahitismul obişnuit, corectarea anomaliilor scheletice reclamă un tratament cu doze foarte mari de vitamină D_3.

În încheiere iată un tabel cu tipurile de răspuns anormal la medicamente.

Tabelul 30

Tipurile de răspuns anormal la medicamente
(după Sparkes şi Wright, 1974)

Caracterul sau boala	Medicamentul	Răspunsul la medicament
1) Detectarea unor caractere genetice prin administrarea de medicamente.		
Test gustativ	feniltiocarbamidă	nu se simte gustul amărui
Pentozurie	glucuronolactonă	xiluloză crescută în urină
Acatalazie	peroxid de hidrogen	absenţa bulelor în plagă
2) Boli favorizate de medicamente.		
Porfirie acută	barbiturice	atac acut
Gută	clorotiazide	atac acut
Diabet zaharat	clorotiazide corticosteroizi	glicozurie curbă de toleranţă la glucoză de tip diabetic
Hemoglobină M, Zurich	sulfonamide	methemoglobinemie
Deficienţă (G-6-PD)	primaquină	hemoliză
Glaucom acut	atropină	atac acut
Glaucom cronic	steroizi	atac acut
Stenoză aortică musculară	digitală	insuficienţă cardiacă
3) Boli determinate de medicamente.		
Pseudocolinesterază atipică	succinilcolină	apnee prelungită
Acetilază hepatică redusă	izoniazidă	neuropatie periferică
Boala Parkinson lentă	fenotiazide	simptome asemănătoare sindromului Parkinson
Focomelie	talidomidă	focomelie
4) Boli genetice cu răspuns neobişnuit la medicamente.		
Fenilcetonurie	noradrenalină	creşterea exagerată a presiunii sistolice
Disautonomie familială	noradrenalină	creşterea exagerată a tensiunii arteriale
Distrofie miotonică	pentotal	depresiune respiratorie
5) Rezistenţa la medicamente determinată genetic.		
Rahitism rezistent la vitamina D	vitamină D	rahitism
Rezistenţă la coumarin	coumarin (anticoagulant)	absenţa răspunsului specific
Rezistenţă la succinilcolină	succinilcolină	relaxare musculară redusă

Începe să se contureze ipoteza că răspunsul la medicamente este condiționat și de sistemul HLA. S-a observat că bolnavii cu artrită reumatismală și HLA, DRw2 și DRw3, au un risc crescut de a prezenta fenomene toxice după un tratament cu penicilamină sau aur (Panagy și col., 1978).

De asemenea, s-a remarcat că levamisolul administrat bolnavilor HLA-B27 induce o supresiune a măduvei osoase mai des decît la bolnavii cu altă constituție HLA.

Mecanismul care condiționează răspunsul la medicamente, în observațiile de mai sus, este încă necunoscut.

CITOGENETICA UMANĂ

Citogenetica constituie o sinteză a citologiei și a geneticii. Ea studiază cromozomii și comportamentul lor în timpul diviziunii celulare, precum și consecințele evolutive și medicale ale modificărilor lor.

Deși citogenetica este o știință relativ veche, cele mai multe dintre cunoștințele noastre actuale sînt produsul ultimelor două decenii. De fapt, citogenetica umană modernă a început în 1956 cînd s-a demonstrat că omul are 46 de cromozomi.

*

Cromozomii sînt purtătorii informației genetice. Ei au rolul de a asigura înmulțirea identică și diviziunea exactă a acestei informații și implicit de a controla dezvoltarea organismelor vii.

Localizarea informației genetice în cromozomi este demonstrată de o serie concludentă de fapte:

— Hibridizarea unui ARN sintetizat *in vitro* și marcat cu izotopi cu ADN-ul *in situ*, pe locusul specific al genei care controlează sinteza ARN-ului utilizat;

— Extragerea din eritrocitele de rață a ARN-ului mesager pentru hemoglobină și prepararea, utilizînd drept matriță acest ARN, a unui ADN complementar (ADNc). ADNc marcat a fost apoi amestecat cu un filament simplu de ADN de rață. ADNc a format împreună cu ADN-ul complementar de rață trei segmente constituite din filamente duble de ADN. Experiența a demonstrat în același timp că sinteza hemoglobinei este controlată de trei gene;

— Aberațiile cromozomale au efecte mai mult sau mai puțin specifice;

— Grefele reciproce; transplantul de nucleu, în unele organisme unicelulare, ca *Acetabularia*, induce apariția caracterelor organismului donor.

Alte experiențe au demonstrat că informația genetică este localizată în acizii nucleici cromozomali. Astfel, virusul mozaicului tutunului a fost disociat în părțile lui componente: în ARN și proteine. ARN-ul (este un virus ARN, nu ADN) este infecțios. Plantele infectate prezintă simptome caracteristice, dar intensitatea lor variază de la o linie virală la alta. Dacă se reconstituie un virus din ARN-ul unei linii și din proteinele altei linii și dacă noul virus infectează o plantă, el va antrena tulburări identice cu cele pe care le determină virusul care a donat ARN-ul. Mai mult, după replicare în organismul gazdă, componentele proteice ale virusului sînt identice cu cele ale liniei din care s-a extras acidul ribonu-

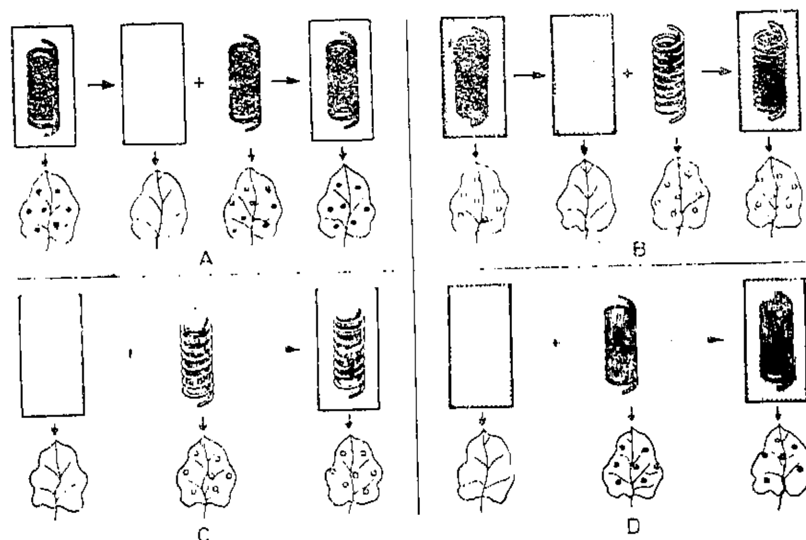


Fig. 56. Experiență care demonstrează că ARN-ul virusului mozaicului tutunului este purtătorul informației genetice. În imaginea A particula virală este disociată în părțile ei componente: în proteine și în ARN. ARN-ul este infecțios, proteina nu. Particulele virale reasociate din proteine și ARN sînt de asemenea infecțioase. Virusurile obținute din frunze infectate doar cu ARN sau din particule virale reasociate sînt identice cu originalul. În imaginea B se observă același rezultat cu altă sușă de virus. În imaginile C și D se observă că infecția cu proteina/ARN hibrid determină simptome caracteristice ARN-ului și nu proteinei (după Sager și Ryan, 1963).

cleic. Acest fapt demonstrează că ARN-ul conține informația necesară sintezei proteice (fig. 56).

Cu excepția unor virusuri care nu au decît un singur acid nucleic (ARN), în toate organismele superioare informația genetică este depozitată în ADN.

STRUCTURA CHIMICĂ A CROMOZOMILOR

Cromozomii eucariotelor sînt constituiți din: acizi nucleici — ADN și puțin ARN; histone; proteine acide — nume sub care au fost incluse proteine eterogene, cu funcții enzimatice, structurale și de control.

La procariote există doar o elice „nudă" de ADN — dublă la *E. coli*, simplă la unele virusuri — sau de ARN — simplă la virusul mozaicului tutunului, dublă la o serie de virusuri animale.

Structura ADN-ului organismelor superioare este mult mai complexă. El este constituit din secvențe scurte de nucleotide, repetate de un mare număr de ori, și din secvențe unice. Secvențele repetate de ADN formează ADN-ul repetitiv. Unitatea de repetiție are o lungime variabilă: poate fi formată doar din șase perechi de baze sau din cîteva sute. În funcție de numărul secvențelor repetate, în eucromatina eucariotelor există două tipuri de ADN repetitiv: un ADN înalt repetitiv și un ADN intermediar, moderat repetitiv. Segmentele înalt repetitive sînt prezente de cel puțin 10 000 de ori, chiar de un milion de ori, în genomul celulelor eucariote. La șoarece, de pildă, 10% din totalul ADN-ului este constituit din 240 de perechi de baze prezente într-un milion de copii.

La hamster unitatea de repetiție este formată doar din șase baze $\frac{CCCTAA}{GGGATT}$, prezentă în sute de mii de exemplare.

Uneori compoziția bazelor din secvențele înalt repetitive este similară cu cea a restului ADN-ului. Alteori însă structura acestor secvențe diferă de cea a majorității ADN-ului. Dacă se centrifughează ADN-ul în gradient de cesiu, care separă ADN-ul în funcție de raportul dintre bazele G=C și A=T, atunci alături de vîrful major ADN apar și alte vîrfuri sau umeri. ADN-ul ultimelor vîrfuri se numește ADN satelit. Frecvent, ADN-ul satelit este constituit din secvențe înalt repetitive.

ADN-ul uman include cel puțin 8 fracțiuni de ADN satelit. Acest tip de ADN este situat îndeosebi în jurul centromerului. ADN-ul satelit I este concentrat în special în

cromozomul Y; ADN-ul satelit II este concentrat în cromozomii 1 și 16 și mai puțin în 9; ADN-ul satelit III este prezent preferențial în cromozomul 9. Fracțiuni mai puțin importante au fost găsite în cromozomii din grupele D, F și G.

ADN-ul moderat repetitiv constă din secvențe similare repetate de 10^1—10^5 ori. La drosofilă, de pildă, există 4 500 de asemenea grupuri.

La om 42% din ADN este format din secvențe repetitive. Cea mai mare parte aparține ADN-ului moderat repetitiv. Împreună cu secvențele unice ultimul tip de ADN formează 80% din totalul ADN-ului uman.

Secvențele unice conțin majoritatea genelor structurale. Ele constituie o mică parte din genom — mai puțin de 5% din genomul uman. Nu este exclus însă ca secvențele considerate drept unice să fie în fapt parțial repetitive.

Distribuția secvențelor repetitive și nerepetitive nu este întîmplătoare (alternarea celor două tipuri de secvențe, unice și repetitive, se numește interspersiune). În funcție de lungimea secvențelor s-au individualizat trei tipuri de interspersiune:

1) Tipul A se distinge prin alternarea secvențelor repetitive scurte (200—400 nucleotide) cu secvențe nerepetitive constituite din mai puțin de 2 000 de nucleotide. Acest tip este caracteristic eucariotelor (Schmidtke și Epplen, 1980).

2) Tipul B se caracterizează prin alternarea unor secvențe nerepetitive de mai multe mii de nucleotide cu secvențe repetitive de lungime variabilă. A fost descoperit în regiuni particulare ale genomului.

3) Tipul C se individualizează prin coexistența unor secvențe repetitive și nerepetitive foarte lungi, de mai multe mii de nucleotide.

Rolul funcțional al secvențelor repetitive este incert. S-a sugerat că ele ar interveni în reglarea replicării ADN-ului (Cavalier-Smith, 1978) și în expresia genelor (Davidson și Britten, 1979). După toate probabilitățile, ADN-ul înalt repetitiv nu este transcris. Pare să fie transcris numai ADN-ul moderat repetitiv. Se crede că o secvență unică împreună cu un mic fragment moderat repetitiv ar constitui o genă.

Există însă certși secvențe de ADN repetitiv cu funcții definite. La drosofilă s-au identificat 130 de còpii ale genelor care codifică ARN-ul ribozomal; la *Xenopus laevis* și la *X. mulleri* există 10 000—25 000 de còpii ale aceleiași gene; la om există doar 416—443.

Nici originea ADN-ului repetitiv nu este clară. Se presupune că ar fi rezultatul unor duplicații genice, probabil, frecvent, nefuncționale, deoarece secvențele ADN-ului repetitiv sînt similare la indivizii aceleiași specii și diferite în specii deosebite.

Aceste date au complicat foarte mult imaginea clasică a cromozomilor și a genelor. Este astfel evident că ADN-ul organismelor eucariote include numeroase secvențe de nucleotide care nu sînt transcrise și că multe dintre genele care sînt transcrise sînt prezente în mai multe còpii.

Histonele sînt cel de-al doilea element constitutiv major al cromozomilor. Sînt proteine cu încărcătură pozitivă, bogate în lizină și arginină; nu au triptofan; sînt fracționabile în 5 clase principale: H1, H2A, H2B, H3, H4 și H5. Sînt sintetizate în citoplasmă și de acolo sînt transportate în nucleu unde se asociază imediat cu ADN-ul. Rolul lor nu este prea bine definit. Se presupune că ar menține structura cromatinei și ar inhiba transcrierea genelor.

Sub numele de proteine acide au fost incluse toate proteinele, cu excepția histonelor. Numărul lor este considerabil. Într-o singură celulă au fost identificate pînă la 500 de proteine diferite. Ele au fost clasificate în patru subclase. Rolul lor este încă discutabil. Se pare că o parte, cel puțin, sînt implicate în reglarea expresiei genice.

Datorită marilor progrese realizate în ultimul deceniu avem o nouă imagine a organizării cromatinei.

Ea este formată din subunități repetate, bine definite, numite nucleozomi. Un nucleozom este constituit dintr-un nucleu format dintr-un fragment de ADN de aproximativ 195 de perechi de baze și două dintre cele patru tipuri de histone: H2A, H2B, H3 și H4. În jurul acestui nucleu se înfășoară ADN-ul.

Lungimea fragmentului de ADN pare să fie constantă în cele mai multe țesuturi animale. Există și excepții: 210 perechi de baze în eritrocite și numai 150 în celulele unor eucariote.

Nucleozomii sînt uniți prin linkeri asociați cu H1.

Datele cunoscute sugerează că un cromozom este format din:

— O singură moleculă de ADN dublu catenar, combinată cu histonele în nucleozom;

— ADN-ul este constituit din secvențe unice, întretăiate de introni și secvențe repetitive.

LOCALIZAREA GENELOR UMANE

Prin localizarea genelor sau prin cartografia genelor se înțelege stabilirea locului pe care îl ocupă o genă într-un cromozom.

Pentru localizarea genelor se folosesc mai multe metode.

STUDIUL LINKAGE-ULUI

Este cea mai veche metodă utilizată în genetică. Cu această tehnică Morgan a localizat numeroase gene la drosofilă.

Se pleacă de la principiul că două gene situate în același cromozom se transmit împreună dacă nu sînt separate prin *crossing-over*. Evident, cu cît genele sînt situate mai aproape cu atît recombinarea este mai rară. Determinarea frecvenței recombinării poate fi folosită astfel pentru stabilirea ordinii genelor într-un cromozom.

Dacă însă genele ocupă loci îndepărtați între care survin două *crossing-over*-uri nu se mai poate stabili corect frecvența recombinării. Deși genele sînt situate în același cromozom, ele par nelinkate. Uneori fiecare dintre cele două gene sînt linkate cu o genă intermediară. În asemenea circumstanțe este clar că toate trei sînt prezente pe același cromozom (genele situate în același cromozom, între care nu s-a putut demonstra nici un *linkage*, se numesc gene sintene).

Prin cercetarea unui număr suficient de mare de familii se poate preciza dacă două gene sînt sau nu linkate. Nu se poate stabili însă și poziția pe care o ocupă. Cu o singură excepție, cromozomul X. În momentul în care s-a găsit un marker — daltonismul, de pildă — se pot studia alte caractere ipotetic localizate pe același cromozom.

Prin intermediul acestei metode s-a stabilit actuala hartă a cromozomului X, cu două excepții: a antigenului de suprafață legat de X și a genei de reglare a tirozin-aminotransferazei.

Localizarea genelor autozomale pe aceeași cale este considerabil mai dificilă. Tehnica este aparent simplă. Se studiază o familie cu o mutație dominantă și simultan se cercetează un număr oarecare de gene: ABO, Rh, HLA. Astfel s-a descoperit că există un *linkage* între locusul pentru 21-hidroxilază și cel al sistemului HLA, între distrofia miotonică și

secretor sau între grupul sangvin Lutheran și caracterul secretor sau nesecretor.

Se stabilește doar faptul că două gene sînt linkate. Poziția lor exactă reclamă alte metode.

Deși metoda continuă să fie folosită, ea a adus destul de puține date concludente. Cel mai mare impediment îl constituie volumul familiei umane. Apoi, rareori o familie poate fi urmărită mai mult de trei generații.

STUDIUL ANOMALIILOR CROMOZOMALE NUMERICE ȘI STRUCTURALE

Se cercetează prezența unui caracter oarecare, o grupă sangvină, o enzimă sau o imunoglobulină, la purtătorul unei anomalii cromozomale și la părinții lui. Cele mai multe informații le oferă, teoretic cel puțin, delețiile. În ipoteza în care părinții sînt homozigoți pentru o genă specifică, descendenții lor sînt heterozigoți. Dacă, de pildă, unul dintre părinți este homozigot pentru grupa sangvină A, iar celălalt homozigot pentru grupa sangvină B, copiii lor sînt heterozigoți AB.

Dacă unul dintre copii are o deleție specifică se va găsi doar o singură grupă sangvină, A sau B. Se conchide că alela absentă se găsește pe fragmentul pierdut. Situația imaginată este extrem de rară. J. de Grouchy (1974) sublinia că realitatea este mult mai complexă. Dacă se admite că toate delețiile sînt intercalare atunci doi indivizi care au aparent aceeași deleție au în realitate pierderi de material genetic diferite.

Studiul delețiilor a adus puține rezultate importante. De fapt, ea a permis să se excludă o serie de localizări. Pînă în 1980 au putut fi excluse cel puțin 300 de gene.

Dintre concluziile aduse de această metodă menționăm una singură. Réthore (1976) a studiat un copil cu o monozomie a brațului scurt al cromozomului 12 și a remarcat că activitatea lactat-dehidrogenazei B este semnificativ mai mică decît la normal. A presupus că gena este localizată pe brațele scurte ale cromozomului anormal. Confirmarea a fost adusă de studiul unui copil cu o trizomie parțială pentru aceeași regiune. În acest ultim caz activitatea enzimei era mult mai mare decît la copiii citogenetic normali.

Firește, activitatea unei enzime crește și în ipoteza în care există o trizomie. În trizomia 21, activitatea superoxid-dis-

mutazei crește de la 1, cît este la normal, la 1,5. Mai mult, combinînd metodele citogenetice cu cele biochimice, Sinet (1975) a demonstrat că gena este situată în banda 21q22.

Cîteva concluzii importante au fost furnizate și de studiul translocațiilor. Remanierea se transmite dominant. Se poate studia astfel asocierea dintre translocație și un marker genetic. Investigația unei familii cu o translocație între un cromozom 1 și un cromozom 16 a dus la concluzia că gena pentru haptoglobină este situată pe cromozomul 16 (Gerald și col., 1964). Ulterior s-a demonstrat că pe acest cromozom este prezentă gena care controlează lanțul alfa-haptoglobinic.

HIBRIDIZAREA CELULARĂ

Este tehnica care a contribuit cel mai mult la realizarea hărților cromozomale. S-a plecat de la ideea emisă de Pontecorvo în 1954 conform căreia ar fi posibilă fuzionarea celulelor somatice, inclusiv a nucleelor. Fenomenul ar fi un fel de reproducție asexuată. Dacă se cultivă celulele unor animale din aceeași specie sau din specii diferite, rezultă hibrizi intra- sau interspecifici. Hibrizii au o proprietate neobișnuită: elimină cromozomi în timpul diviziunii celulare. Eliminarea are un caracter specific. Hibrizii om-șoarece elimină cromozomii umani, iar hibrizii om-șobolan, pe cei de șobolan. Prin hibridare se obțin clone. Apoi se stabilesc traseele electroforetice ale unui număr cît mai mare de enzime. În momentul în care unul dintre cromozomi a fost eliminat dispare și amprenta electroforetică a enzimei.

În 1968 Migeon a descoperit, printr-o tehnică fundamental similară cu cea descrisă mai înainte, poziția genei care codifică timidin-kinaza. Hibrizii au fost cultivați într-un mediu HAT (hipoxantin-aminopterin timidină). Celulele umane erau normale. Dar celulele de șoarece erau deficiente în timidin-kinază. În mediul HAT aceste celule mor, deoarece aminopterina blochează sinteza endogenă a purinelor și pirimidinelor. Hibrizii supraviețuiesc pentru că pot utiliza nucleotide exogene. Supraviețuiesc atîta timp cît au gena pentru timidin-kinază.

Hibrizii au început să elimine treptat cromozomi umani. Ultimul cromozom păstrat a fost 17. După pierderea acestui cromozom hibrizii au murit. S-a conchis astfel că gena pentru timidin-kinază este localizată, la om, pe cromozomul 17.

Se pot localiza simultan două gene dacă activitățile lor dispar împreună. Prin acest test, numit test sintenic, Nabholtz (1969) a demonstrat că activitatea hipoxantin-fosforibozil-transferazei (HGPRT) dispare odată cu cea a glucozo-6-fosfat-dehidrogenazei. Cum ultima enzimă este situată pe cromozomul X s-a dedus că și HGPRT este localizată pe același cromozom.

HIBRIDIZAREA MOLECULARĂ — CEA MAI PROMIȚĂTOARE DINTRE TEHNICILE CUNOSCUTE

Este însă și cea mai complicată. Într-o primă etapă trebuie să se obțină o „sondă" radioactivă:

— se extrage ARNm specific (de pildă, ARNm pentru α și β globină; în acest caz, ARNm se obține din sîngele periferic);

— cu ajutorul transcriptazei inverse se obține un ADN complementar (ADNc);

— ADNc este marcat cu izotopi radioactivi; el se împerechează cu gena corespunzătoare cu condiția ca ADN-ul celular să fie monocatenar. Localizarea se face prin autoradiografie. Astfel, Deisseroth (1974) a precizat poziția genei α a globinei.

Se poate folosi o altă tehnică imaginată tot de Deisseroth (1977). Hibridarea are loc în soluție. Se extrage apoi ADN din mai multe clone, în fiecare clonă există cromozomi umani cunoscuți, și se stabilește procentul de ADN marcat. Dacă hibridarea a avut loc, atunci procentul de ADNc este proporțional cu numărul genelor prezente. Rezultatele sînt concludente numai dacă s-a stabilit în prealabil că ADNc nu reacționează cu ADN de șoarece. Deisseroth a remarcat că activitatea α este prezentă doar în clonele care conțin un cromozom 16.

Cu ajutorul metodelor menționate mai înainte au fost localizate pînă acum (1980) 350 de gene — 240 pe autozomi și 110 pe cromozomii X și Y. O parte dintre aceste gene a fost localizată pe un cromozom dat, fără nici o altă specificare; altă parte a fost localizată pe un anumit braț iar altă parte, mereu mai importantă, a fost situată cu precizie într-o regiune (bandă) bine definită (Mc Kusick, 1980).

Pentru a ilustra amploarea cunoștințelor actuale prezentăm o parte din harta cromozomală umană.

Tabelul 31

Harta cromozomală umană

Gena	Poziţia
Enolaza (fosfopiruvat-hidrataza)	p ter-p 36
Situl cromozomal 1p al adenovirusului 12	p 36
Alfa-1-fucozidaza	p 32-p 34
Adenilat-kinaza 2 (mitocondrială)	p ter-p 31
Grupul sangvin Rhesus	p 32-p ter
Fosfoglucomutaza 1	p 32-p 34
Uridin-monofosfat-kinaza	p 32
Glucozo-1-fosfat-uridil-transferaza	p 21-q 23
Situl cromozomal 1q al adenovirusului 12	q 22
Grupul sangvin Duffy	q 21-q 23
Glucozo-dehidrogenaza	p ter-q 23
ARN ribozomal 5S	q 41-q 42
Peptidaza C	q 42
Guanilat-kinaza	q 44
Fumarat-hidrataza	q 42-q ter
Amilaza salivară	braţul scurt
Amilaza pancreatică	braţul scurt
Grupul sangvin Sciana	braţul scurt
Grupul sangvin Dombrock	braţul scurt
UDP-galactozo 4 epimeraza	braţul lung
Antitrombina III	braţul lung
Guanilat-kinaza 2	localizare nesigură
Transferina	localizare nesigură
Fumarat-hidrataza 2 (mitocondrială)	
Cromozomul 2	
Malat-dehidrogenaza-1	p 23-p ter
Fosfataza acidă 1	p 23
Lanţurile grele ale imunoglobulinelor	p 15-q 36
Grupul sangvin MNSs	p 12-p 23
Izocitrat-dehidrogenaza	q 32-q ter
Alfa-1-antitripsina	q 15-q 36
Cromozomul 3	
Aminoacilaza 1	localizare nesigură
Glutation-peroxidaza	localizare nesigură
Betagalactozidaza A	localizare nesigură
Cromozomul 4	
Peptidaza S	p ter-q 21
Fosfoglucomutaza 2	p 14-q 21
Cromozomul 5	
Hexozoaminidaza B	cen-q 13
Hexozoaminidaza A (subunitatea beta)	cen-q 13
Sensibilitatea la toxina difterică	q 15-q ter
Cromozomul 6	
Complexul major de histocompatibilitate	p 21-p 22

Tabelul 31 (continuare)

Gena	Poziţia
HLA-A	
HLA-B	
HLA-C	
HLA-D	
HLA-DR	
21-hidroxilaza	
Fracţiunea C2 a complementului	
Fracţiunea C4 a complementului	
Fracţiunea C8 a complementului	
Receptorul fracţiunii C3b	
Receptorul fracţiunii C3d	
Betaglicoproteina bogată în glicină	
Grupul sangvin Chido	
Grupul sangvin Rodgers	
Locusul răspunsului imun	
Reacţia imunitară mixtă	
Genă asociată cu răspunsul imun	
Fosfoglucomutaza 3	p 21 q ter
Glioxalaza 1	p 1
Superoxid-dismutaza 2	q 22
Activatorul plasminogenului	localizare nesigură
Grupul sangvin P	localizare nesigură
Antigenul de suprafaţă al celulelor B	localizare nesigură
Cromozomul 7	
Argininosuccinat-liaza	p ter q 22
Antigenul de suprafaţă 7	p ter-p 11
Betaglucuronidaza	cen
Factorul Hageman	q 35
Lanţul uşor Kappa al imunoglobulinelor	braţul lung
Grupa sangvină Kidd	braţul lung
Histone	localizare nesigură
Histone H4	localizare nesigură
Grupa sangvină Colton	localizare nesigură
Cromozomul 8	
Glutation-reductaza	p 21
Lanţurile grele ale imunoglobulinelor	localizare nesigură
Cromozomul 9	
Adenilatkinaza 3	p ter-q 11
Adenilatkinaza 1	q 34
Grupa sangvină ABO	q 34-q ter
Cromozomul 10	
Hexokinaza 1	p ter-q 34
Pirofosfataza anorganică	p ter-q 24
Transaminaza-glutamic-oxalacetică	q 24-q 26

Gena	Poziţia
Cromozomul 11	
Lactatdehidrogenaza A	p 123-p 128
Fosfataza acidă	cen-p 12
Esteraza A4	cen-q 22
Locusul non-alfa al hemoglobinei	localizare nesigură
Cromozomul 12	
Triozofosfat-izomeraza	p 122-p ter
Enolaza	p ter-q 22
Lactat-dehidrogenaza B	p 121-p 122
Alfa-1-antitripsina	p 12-q ter
Imunoglobuline	p 13-q 12
Peptidaza B	q 21
Cromozomul 13	
ARN ribozomal	p 12
Esteraza D	q 2-q 3
Cromozomul 14	
ARN ribozomal	p 12
Nucleozid-fosforilaza	q 12-q 20
Triptofenil-t-ARN-sintetaza	q 12-q ter
Cromozomul 15	
ARN ribozomal	p 12
Alfa-manozidaza citoplasmatică	q 11-q ter
Izocitrat-dehidrogenaza mitocondrială	q 21
Piruvat-kinaza 3	q 22-q ter
Hexozoaminidaza A (subunitatea alfa)	q 22-q ter
Beta-2-microglobulina	q 22-q ter
Cromozomul 16	
Haptoglobina alfa	q 22-ceh
Adenin fosforibozil-transferaza	braţ lung
Gena alfa a hemoglobinei	localizare nesigură
Timidinkinaza mitocondrială	localizare nesigură
Colinesteraza plasmatică	localizare nesigură
Cromozomul 17	
Galactokinaza	q 21-q 22
Timidinkinaza solubilă	q 21-q 22
Cromozomul 18	
Peptidaza A	q 23-q ter
Gonadotrofinele corionice	localizare nesigură
Cromozomul 19	
Glucozo-6-fosfat izomeraza	p ter-q 13
Alfa-manozidaza	p ter-q 13

Gena	Poziţia
Cromozomul 20	
Adenozin dezaminaza	q 23-q ter
Cromozomul 21	
ARN ribozomal	p 12
Superoxid-dismutaza solubilă	q 221
Sistemul receptor al interferonului	localizare nesigură
Betalipoproteina	localizare nesigură
Glutation peroxidaza	localizare nesigură
Cromozomul 22	
ARN ribozomal	p 12
Beta galactozidaza	q 13-q ter
Alfa-galactozidaza B	localizare nesigură
Arilsulfataza A	localizare nesigură
Cromozomul X	

Prin metode genealogice s-a stabilit de mult că o serie de gene sînt situate pe acest cromozom: hemofilia, A şi B, daltonismul, albinismul ocular. Datorită metodelor moderne a crescut considerabil numărul genelor cu această localizare.

Fosfoglicerat-kinaza	q 13
Alfa-galactozidaza	q 21-q 24
Grupul sangvin Xg	q 26-q ter
Hipoxantin-fosforibozil-transferaza	q 28
Glucozo-6-fosfat-dehidrogenaza	q 28
Antigenul de suprafaţă legat de X	braţul lung
Reglatorul tirozinei-aminotransferaza	braţul lung
Precursorul grupului sangvin Kell	braţul lung
ADN-ligaza	braţul lung
NADPH-oxidaza leucocitară	braţul lung
Fosforilat-kinaza (glicogenoza VII)	braţul lung
Ornitin-carbamil-transferaza	braţul lung
Globulina transportoare a tiroxinei	braţul lung
17—20 desmolaza testiculară	braţul lung

Pe cromozomul Y s-au identificat doar două gene — antigenul diferenţierii testiculare (H—Y) situat în regiunea centro-

merică și al treilea factor de azoospermie situat pe brațele lungi-q l-q ter.

S-au localizat și primele tulburări ereditare condiționate de mutații autozomale. Dintre cele 40 identificate vom menționa numai o parte:

deficiența 21-hidroxilazei	6p
tumora Wilms	11p
retinoblastoma	13q
leucemia mieloidă cronică	22q
eliptocitoza	1p
talasemiile	11p—16p
anemia cu celule falciforme	11p
galactozemia	9p
deficiența galactokinazei	17q
fucozidaza	1p
fenilcetonuria clasica	1p(?)

Pe cromozomul X s-au descoperit numeroase mutații:

— agamaglobulinemia-sindromul Wiskott-Aldrich;
— acantocitoza;
— maladia granulomatoasă cronică (sindromul lui Good);
— mucopolizaharidoza -tipul Hunter-Hurler-II;
— hemofilia A;
— insensibilitatea la androgeni;
— sindromul testiculului feminizant;
— boala lui Duncan;
— hemofilie B;
— agamaglobulinemie de tip Bruton;
— agamaglobulinemie de tip elvețian;
— hipofosfatemie.

Acesta este începutul. În fața geneticii stă o sarcină formidabilă: localizarea celor cîteva zeci de mii de gene ale genomului uman. Pînă acum, după opt decenii de cercetări, s-au identificat aproximativ 3 070 de loci: 1 450 pe autozomi și 110 pe cromozomul X sînt identificări certe; restul sînt provizorii.

Studiul hărților cromozomale sugerează o primă serie de date. Ca o regulă generală, genele care controlează un caracter nu sînt sintenice — nu sînt în *linkage*. Există și excepții. Este firesc ca genele să fie localizate pe cromozomi diferiți, deoarece multe enzime intervin în procese multiple. Totuși și la om și cu siguranță și la alte mamifere genele care intervin secvențial se găsesc pe același cromozom.

Precizarea hărților cromozomale are însă și aplicații imediate. Prin studiul *linkage*-ului, de pildă, se pot detecta prenatal o serie de tulburări ereditare (despre această metodă se va vorbi în capitolul de profilaxie a tulburărilor ereditare) (Mc Kusick, 1980). După părerea lui Philip și col. (1979), cartografia genică deschide noi perspective terapiei genetice.

MORFOLOGIA CROMOZOMILOR

În metafază cromozomii seamănă cu un X sau un V. Fiecare cromozom este constituit din două filamente, cromatide, unite într-un punct numit centromer sau constricție primară, structură esențială pentru disjuncția cromatidelor surori în timpul diviziunii celulare. Unii cromozomi prezintă și constricții secundare.

Centromerul, care conține ADN, se colorează cu tehnicile de bandare C. În regiunea centromerică există o placă chinetocorică în care pătrund microtubulii fusului.

Chinetocorul este locul în care se atașează fusul. S-a sugerat ca chinetocorul să fie considerat drept o genă specializată numită organizator chinetocoric care activată, organizează proteinele plăcii într-o formațiune funcțională (Holmquist-Dancis, 1979).

Microscopia electronică a demonstrat că toți cromozomii eucariotelor sînt alcătuiți din fibre și că fiecare fibră este formată dintr-o elice de ADN și proteine. După Rees și Jones (1977), fibrele au un diametru variabil în funcție de densitatea spiralizării. Fiecare cromozom este format dintr-o singură fibră care se întinde de la o extremitate la cealaltă a cromozomului. Fibra cromozomilor umani are un diametru de aproximativ 23 nm și este puternic spiralizată — cromozomul este astfel mononemic și nu polinemic.

CARIOTIPUL

Prin cariotip se înțelege aranjarea sistematică a cromozomilor unei singure celule.

Cromozomii pot fi clasificați în funcție de poziția centromerului în trei tipuri (fig. 57):

— Metacentrici, cînd centromerul se găsește la egală distanță între cele două extremități, în așa fel încît brațele sînt egale;

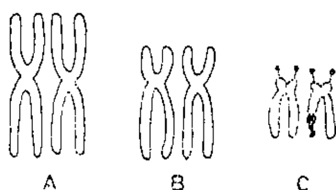


Fig. 57. Cele trei tipuri de cromozomi: A = metacentric; B = submetacentric și C = acrocentric.

— Submetacentrici, cînd cromozomul se găsește între mijlocul cromozomului și una dintre extremități; cromozomii au astfel brațe inegale: un braț mic și un braț mare.

— Acrocentrici, cînd centromerul este situat aproape de una dintre extremități. Toți acrocentricii umani au pe brațul scurt un mic filament terminat cu o formație cromatiniană. Aceste formațiuni se numesc sateliți.

Pe baza lungimii totale și a poziției centromerului, cromozomii umani au fost împărțiți, conform clasificației propuse la Denver (1960), în șapte grupe: grupa 1—3 sau grupa A; grupa 4—5 sau grupa B; 6—12 sau grupa C; grupa 13—15 sau D; grupa 16—18 sau E; grupa 19—20 sau F; grupa 21—22 sau G. Cromozomii de sex se clasifică separat. În general, grupele încep cu cromozomii cei mai mari și se termină cu cei mai mici:

— Grupa A cuprinde primele trei perechi de cromozomi. Cromozomul 1 este cel mai mare metacentric; cromozomul 2 este ușor submetacentric iar cromozomul 3 este metacentric (de fapt, ușor submetacentric) și este mai mic decît cromozomul 1;

— Grupa B include perechile 4 și 5, cromozomi mari submetacentrici. Perechea 4 este mai mare decît perechea următoare;

— Grupa C cuprinde perechile 6—12, perechi de dimensiuni medii. Sistematizarea lor nu este întotdeauna ușoară. Trei cromozomi — 9, 10, 12 — sînt submetacentrici și patru — 6, 7, 8 și 11 — sînt relativ metacentrici;

— Grupa D este formată din perechile 13—15, acrocentrici mari, toți cu sateliți;

— Grupa E cuprinde trei perechi: 16, formată din cromozomi metacentrici, și 17 și 18 constituite din submetacentrici. Perechea 18 are brațele mici mai scurte decît perechea 17;

— Grupa F este formată din două perechi de cromozomi mici, metacentrici, 19 și 20;

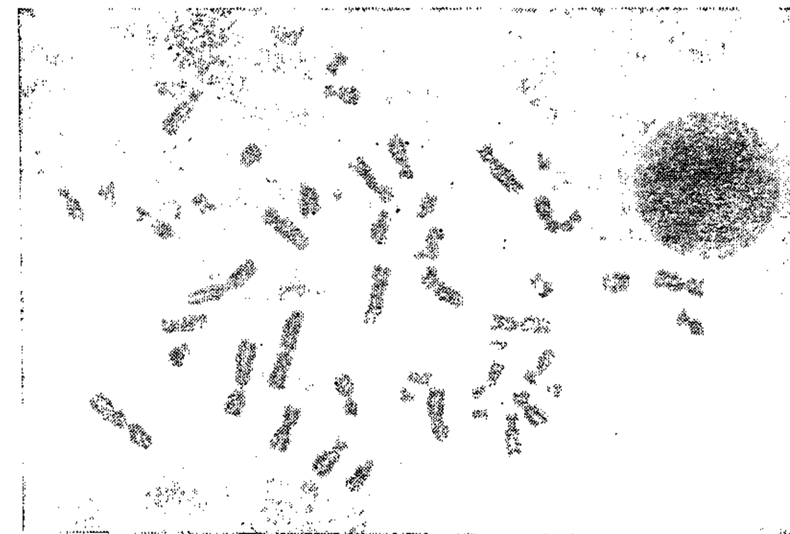


Fig. 58. Cariotipul uman.

— Grupa G include perechile de acrocentrici mici 21 și 22. Ambii cromozomi au sateliți.

Cromozomul X seamănă cu cromozomii 6 și 7 din grupa C și cu tehnicile clasice este greu de identificat.

Cromozomul Y seamănă cu acrocentricii mici. Pe preparate bune el poate fi identificat cu certitudine, deoarece are brațele lungi mai curînd paralele, porțiunea terminală a brațelor lungi este mai puțin bine definită și nu are sateliți (fig. 58).

În general, cu metodele clasice nu poate fi recunoscut decît un număr mic de cromozomi: 1, 2, 3 și 16. Introducerea autoradiografiei a permis și identificarea altor cromozomi.

Cele mai importante rezultate le-a adus introducerea tehnicilor de bandare, tehnici care permit evidențierea unor substructuri numite benzi. Prima dintre ele a fost pusă la punct de T. Casperson și colab. (1970). Ei au observat că după tratarea metafazelor cu un fluorocrom, chinacrină de pildă, cromozomii prezintă în lumină fluorescentă benzi mai mult sau mai puțin intens fluorescente. Aceste benzi au fost numite benzi Q, după chinacrină. Fiecare cromozom prezintă o succesiune specifică de benzi.

Ulterior s-au descoperit noi tehnici de bandare: prin digestie proteolitică urmată de colorare cu soluție Giemsa,

benzi G — de la Giemsa — care au o succesiune similară benzilor Q şi prin denaturare termică, benzi R — reverse-inverse — care, aşa cum sugerează şi numele, au o succesiune inversă celor două tipuri precedente de benzi.

Aceste benzi apar ca formaţiuni transversale, caracteristice, aşa cum spuneam, fiecărui cromozom. Benzile au aceeaşi dispoziţie în toţi cromozomii, indiferent de ţesutul în care sînt studiaţi şi nu suferă nici un fel de modificări în cursul dezvoltării.

Modul de apariţie a benzilor este ipotetic. După informaţiile sumarizate de Bostock şi Sumner (1978), benzile Q par să fie rezultatul legării chinacrinei de ADN-ul cromozomal şi nu de proteinele cromozomale. Despre natura benzilor G se ştie la fel de puţin. Se presupune că diferenţele dintre benzi par să fie condiţionate de natura proteinelor cromozomale. Deci deşi cele două tipuri de benzi sînt morfologic similare, ele reflectă procese biochimice diferite. Oricum, faptul că aceste benzi se replică tîrziu sugerează că ele sînt condensate şi ca atare inactive, cel puţin în timpul interfazei.

Tot prin denaturare termică se obţin benzile C, heterocromatina, care au o dispoziţie specială: sînt concentrate în regiunea centromerică a unor cromozomi (fig. 59). Nici despre natura acestor benzi nu se ştie prea mult. Se presupune că ar conţine proteine specifice.

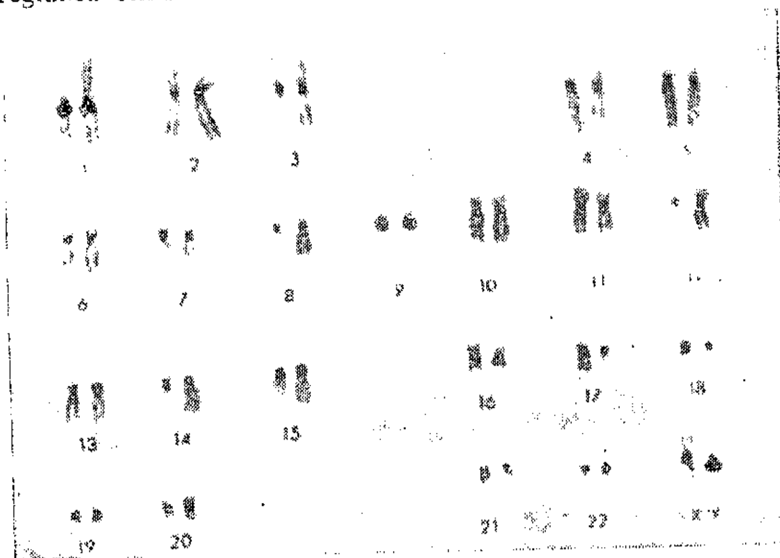


Fig. 59. Distribuţia benzilor C.

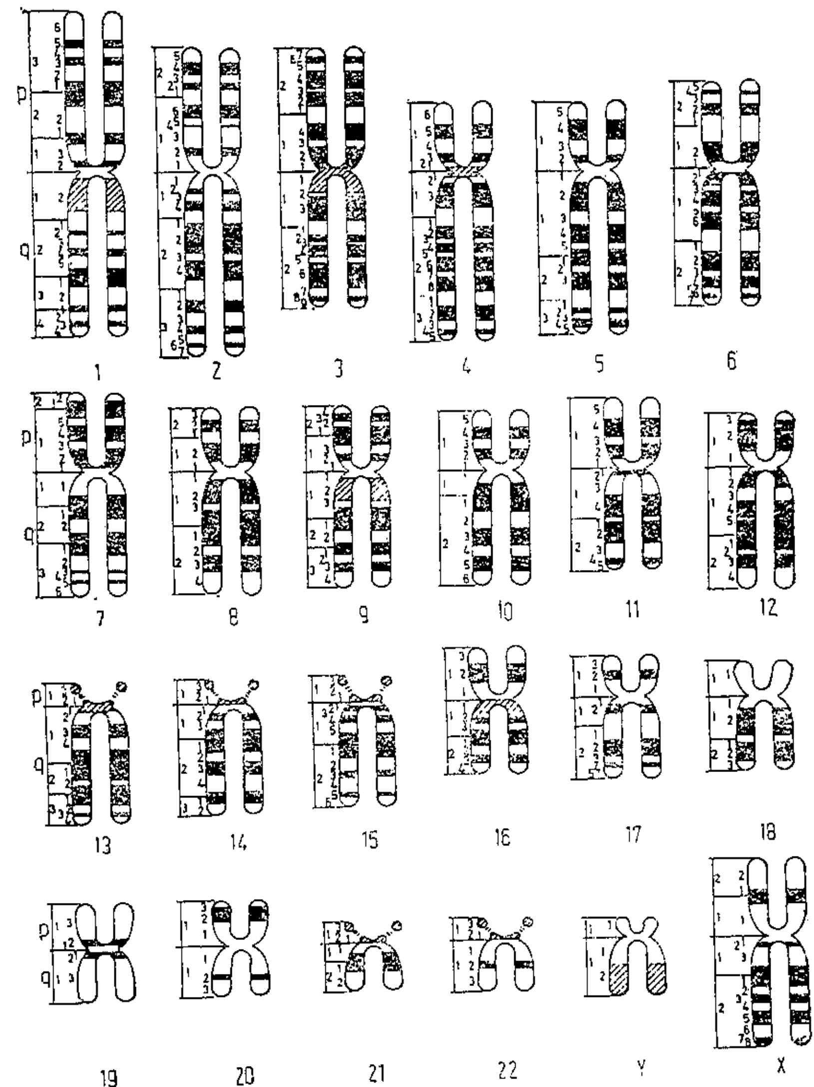


Fig. 60. Distribuţia benzilor cromozomale Q şi R.

Există şi alte tipuri de benzi. De pildă, se pot obţine benzi în regiunile telomerice, la extremitatea braţelor cromozomale, aşa-numitele benzi T.

La Conferința de citogenetică de la Paris (1971) s-a propus un sistem de nomenclatură a benzilor. Fiecare braț cromozomal este constituit din regiuni, una sau mai multe, și fiecare regiune este formată din benzi succesive colorate sau necolorate, în funcție de tehnica folosită. Ca atare, nu există regiuni nebandate. Clasificarea benzilor este redată în imaginea din fig. 60.

POLIMORFISMUL CROMOZOMILOR

Tehnicile de citogenetică clasică au reliefat existența unor mici deosebiri între cromozomii omologi. Diferențele se limitau la sateliți și la constricțiile secundare. Metodele de bandare au demonstrat însă că există și un polimorfism al benzilor.

De pildă, benzile C pot avea dimensiuni diferite pe cei doi cromozomi omologi. Deoarece benzile C conțin cantități importante de ADN satelit, variațiile dimensionale au fost atribuite creșterii sau diminuării volumului acestui tip de ADN.

Polimorfismul benzilor Q are note distincte. Benzile de pe cromozomii omologi se deosebesc mai puțin prin dimensiuni și mai mult prin intensitatea fluorescenței.

S-a văzut că polimorfismul benzilor, inclusiv inversiunile pericentrice se transmit mendeleean.

*

Benzile au o importanță practică considerabilă. Datorită lor a devenit posibilă identificarea certă a tuturor perechilor de omologi. Tot bandarea permite recunoașterea unor remanieri — a segmentelor implicate în translocații, identificarea segmentelor pierdute. Iată un singur exemplu. Înainte de punerea la punct a tehnicilor de bandare se admitea că markerul leucemiei mieloide cronice este un cromozom 21 — un cromozom care a pierdut o parte din brațele lungi —, cromozomul Philadelphia. După bandare a devenit cert că nu este cromozomul 21, ci cromozomul 22 și că nu este vorba de o deleție, ci — deseori — de o translocație: fragmentul lipsă de pe brațele lungi a fost transferat pe brațele lungi ale unui cromozom 9 sau, mai rar, pe alt cromozom.

Apoi bandarea a făcut posibilă identificarea unor noi sindroame — de trizomie și monozomie parțială și, la alt

nivel, a aruncat noi lumini asupra rolului evolutiv al cromozomilor.

EUCROMATINA ȘI HETEROCROMATINA

Conceptul de eucromatină și de heterocromatină este legat de cromozomii de sex și de cromatina sexuală. Încă de la începutul acestui secol s-a observat că cei doi cromozomi de sex au proprietatea de a se colora diferit, cel puțin în anumite momente ale ciclului mitotic și meiotic, de ceilalți cromozomi. De aceea au primit numele de heterocromozomi. Mai tîrziu, Heitz (1928) a diferențiat două feluri de regiuni cromozomale și de cromozomi: o parte care rămîn compacți în interfază și care manifestă reacții tinctoriale diferite a fost numită heterocromatină. Părțile cromozomale care devin invizibile în telofază au primit numele de eucromatină. Inițial heterocromatina a fost un concept citologic. Ulterior s-a studiat structura acestei formațiuni.

Eucromatina constituie acea parte a cromozomilor care are un ciclu regulat de spiralizare și despiralizare în tot cursul diviziunii celulare. În interfază este dispersată și de aceea greu de descoperit. Ea conține genele cu transmitere mendeleeană.

Heterocromatina diferă de eucromatină. În interfază are tendința de a rămîne condensată, particularitate generată de o spiralizare diferențiată. Apoi replicarea ei are loc mai tîrziu decît cea a eucromatinei; are o fluorescență intensă și se colorează pozitiv în benzile C și/sau pozitiv în benzile G și negativ în benzile R.

S-au diferențiat două feluri de heterocromatină: constitutivă și facultativă. Prima, permanent condensată, este prezentă pe aceleași porțiuni ale cromozomilor omologi. Ea este constituită din secvențe repetate de nucleotide — ADN repetitiv. Se pare că acest tip de cromatină nu conține gene structurale.

Prin heterocromatină facultativă se înțelege cromatina condensată permanent într-unul sau altul dintre cromozomii unei perechi, dar niciodată în amîndoi. Acești cromozomi se condensează în anumite faze ale dezvoltării, deoarece funcția lor nu este necesară. Un exemplu concludent de heterocromatină facultativă este cromatina sexuală, expresia inactivării și condensării unuia dintre cei doi cromozomi X.

Funcţia heterocromatinei constitutive este incertă. Se presupune că ar fi inactivă genetic. Heterocromatina facultativă asigură compensarea dozajului, despre care vom vorbi mai tîrziu. Dar în timp ce heterocromatina constitutivă rămîne permanent inactivă, heterocromatina facultativă îşi poate modifica activitatea. De pildă, X-ul condensat — cromatina sexuală — evident în celulele somatice este absent în celulele germinale premeiotice ovariene. Inactivarea survine după săptămîna a 12-a. În celulele germinale masculine, X-ul trece la începutul meiozei dintr-o stare activă într-una inactivă.

DIVIZIUNEA CELULARĂ

Diviziunea celulară este un proces continuu care poate fi însă divizat în patru stadii: G1, S, G2 şi M sau D, ori, tradiţional, în: profază, metafază, anafază şi telofază. Cele două clasificaţii pot fi corelate.

În G1 apar procesele generale celulare. În perioada următoare, S, are loc sinteza ADN-ului — replicarea cromozomilor. Perioada G2 este perioada de repaus şi se întinde între terminarea sintezei ADN-ului şi începutul mitozei. Cele trei perioade alcătuiesc interfaza clasică. În ultima perioadă, M sau D, are loc mitoza.

Un ciclu celular, studiat în culturi de celule, durează aproximativ 18 ore. Perioada M sau D durează doar o oră (fig. 61).

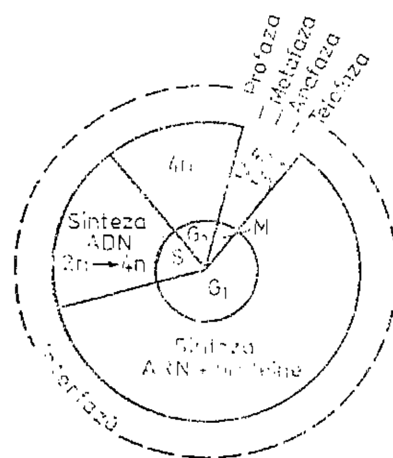


Fig. 61. Relaţia cronologică a evenimentelor genetice şi biochimice în ciclul celular normal (după Spakes şi Wright, 1971).

MITOZA

Este un tip de diviziune întîlnit în celulele somatice, din care rezultă două celule fiice, fiecare avînd acelaşi complement cromozomal ca şi celula parentală.

Mitoza este divizată în patru stadii: profaza, metafaza, anafaza şi telofaza, separate printr-o interfază.

În interfază cromozomii sînt alungiţi şi nu se pot individualiza.

Profaza începe în momentul în care cromozomii devin vizibili. Fiecare dintre ei este format din două filamente alungite, cromatidele, unite prin centromer. Membrana nucleară dispare şi centriolii migrează spre polii celulei.

Metafaza. Cromozomii s-au îngroşat şi s-au aliniat de-a lungul plăcii ecuatoriale. Ei sînt ataşaţi de fibrele fusului prin centromer.

Anafaza. Centromerul se divide şi cele două cromatide se separă, fiecare migrînd spre unul dintre polii celulei.

Telofaza. Odată cu atingerea polilor începe ultima fază a diviziunii celulare. În acest stadiu membrana celulară se divide şi se formează două celule separate, celulele fiice, identice genetic, cu celula mamă. Această afirmaţie este susţinută de numeroase fapte. Astfel, cromozomii din celulele fiice au aceeaşi înfăţişare şi acelaşi conţinut în ADN ca şi cromozomii parentali. Apoi, descendenţii rezultaţi prin reproducere asexuată au acelaşi genotip. Se poate conchide astfel că informaţia genetică inclusă în cromozomi se transmite nemodificată de-a lungul ciclurilor mitotice. Acest fenomen este posibil, deoarece cromozomii şi genele au capacitatea de a se replica, de a face o copie (identică cu originalul).

Replicarea cromozomilor se poate realiza doar în două feluri: conservativ sau semiconservativ. În prima ipoteză matriţa de ADN rămîne intactă şi apare o altă moleculă de ADN care conţine două filamente noi.

În replicarea semiconservativă fiecare filament se separă după replicare în aşa fel încît fiecare dublu-filament este constituit dintr-un filament nou şi unul vechi.

Pentru a studia replicarea cromozomilor, Taylor şi col. (1957) au marcat cromozomii în interfază cu timidină tritiată. Ei au observat că în metafaza următoare ambele cromatide ale fiecărui cromozom sînt marcate. În cea de-a doua metafază însă numai una dintre cromatide este marcată

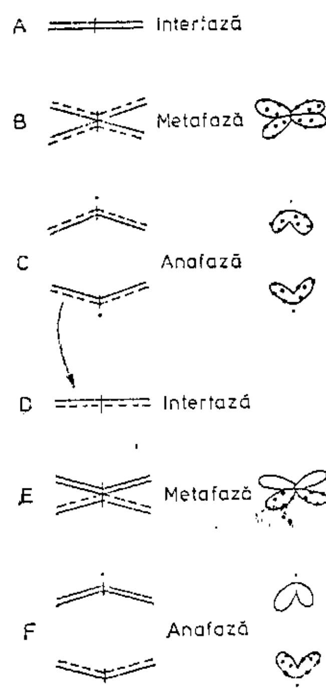


Fig. 62. Experiențele lui Taylor. În urma replicării dublei elice de ADN (A) în prezența timidinei tritiate este marcat doar unul dintre filamentele de ADN ale fiecărei cromatide, în metafază (B) și anafază (C). După replicarea cromozomului fiu (D) în absența timidinei marcate, în metafaza și anafaza următoare (E și F) numai una dintre cromatide conține un filament de ADN marcat (după Rees și Jones, 1977).

Această observație demonstrează că fiecare cromatidă este constituită dintr-o singură dublă elice de ADN care se replică semiconservativ (fig. 62).

Replicarea la eucariote este bireeționalá, ca și la procariote dealtminteri. Dar în timp ce la procariote replicarea începe într-un singur punct, la eucariote există mai multe puncte de inițiere.

GAMETOGENEZA

Formarea gameților are loc în gonade și are ca punct de plecare celule germinale diploide. Procesul se desfășoară în trei etape distincte:

— Etapa de multiplicare. Celulele primordiale se multiplică prin mitoze normale. După un număr de diviziuni se formează spermatogoniile și ovogoniile;

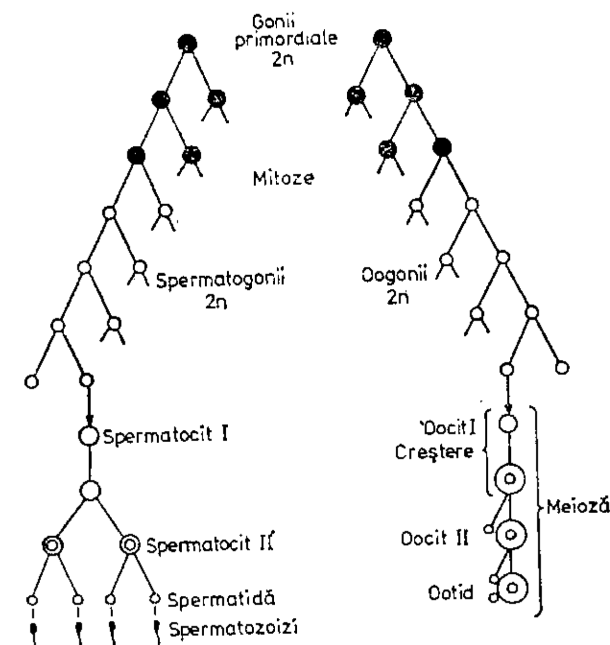


Fig. 63. Gametogeneza.

— Etapa de creștere. Goniile, îndeosebi ovogoniile, își măresc volumul. La sfîrșitul etapei se numesc spermatocite și ovocite de ordinul I;

— Etapa de maturație. Ovocitele și spermatocitele suferă două diviziuni succesive — meioză — una reducțională și una ecuațională (normală). Așa cum se vede în imaginea din fig. 63, dintr-un ovocit de ordinul I rezultă un singur gamet, iar dintr-un spermatocit de același ordin, rezultă patru spermatozoizi.

Meioza este așadar un tip particular de diviziune celulară, care are loc în gonade, în cursul căreia din celule diploide se formează gameți haploizi: numărul de cromozomi diploid se reduce la numărul haploid (23), caracteristic gameților umani. În acest fel se asigură constanța numărului de cromozomi caracteristic speciei.

Meioza comportă două stadii, unul reducțional și, așa cum am mai spus, unul divizional sau ecuațional.

În profaza primei diviziuni meiotice se disting cinci faze:

— Leptoten: cromozomii au forma unor filamente subţiri; ei sînt deja replicaţi;

— Zigoten: se distinge prin împerecherea sau sinapsa cromozomilor omologi. Sinapsa pare să înceapă în puncte bine definite. Împerecherea are loc nu numai între cromozomii omologi, ci şi între segmentele omoloage ale cromozomilor. Cromozomii se scurtează şi devin mai vizibili. De-a lungul cromozomilor se disting granule intens colorate numite cromomere;

— Pahiten: este un stadiu lung care începe în momentul în care sinapsa este completă. Cromozomii continuă să se contracte şi cromomerele sînt evidente. Aranjarea lor caracteristică permite identificarea cromozomilor. Perechile de cromozomi asociaţi se numesc bivalenţi;

— Diploten: atracţia dintre cromozomii omologi încetează şi ei tind să se separe. Rămîn totuşi uniţi prin chiasma (plural chiasmata). Chiasmata constituie manifestarea citologică a *crossing-over*-ului. În acest stadiu se observă cu claritate că fiecare cromozom este dublu şi că bivalenţii au deci patru filamente. Chiasma formează o cruce între două dintre aceste filamente. Acolo, în urma unei duble rupturi — una într-un filament şi cealaltă în alt filament — a avut loc un schimb de material genetic (fig. 64). Cu alte cuvinte, *crossing-over*-ul constituie schimbul mutual de material genetic între cromatidele cromozomilor omologi iar punctele de pe cromozomi unde a avut loc un *crossing-over* poartă numele de chiasma. În urma acestui fenomen apar cromozomi noi, sau mai exact noi combinaţii de gene (recombinare).

— Diachineză: se distinge prin două particularităţi: prin spiralizarea accentuată a cromozomilor şi prin terminalizarea chiasmatelor, adică prin migrarea chiasmatelor către extremităţile bivalenţilor;

— Prometafaza: membrana nucleară dispare şi începe formarea fusului;

— Anafază: cromozomii omologi, fiecare format din două cromatide, se separă şi fiecare migrează spre unul dintre polii celulei;

— Telofaza: începe despiralizarea cromozomilor, fenomen care continuă în interfază.

A doua diviziune meiotică este similară cu diviziunea mitotică. Între ele există trei deosebiri esenţiale:

— Celulele au numai 23 de cromozomi;

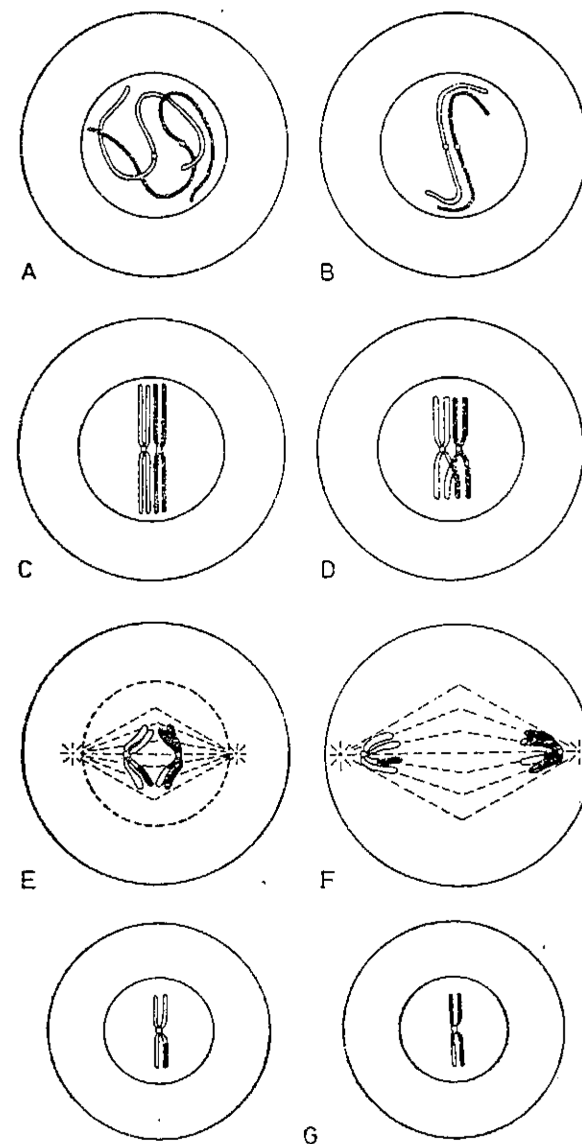


Fig. 64. Meioza. Prima diviziune meiotică. Este reprezentată de o singură pereche de cromozomi. Un cromozom parental este în alb, celălalt cromozom parental este în negru. a = leptoten; b = zigoten; c = pahiten; d = diploten arătînd o chiasmă; e = metafază; f = anafază; g = telofază (după Thompson şi Thompson, 1967).

— Dacă a avut loc un *crossing-over*, cromatidele surori sînt diferite;

— Diviziunea celulară nu este precedată de sinteza de ADN.

Deoarece cromozomii de sex nu sînt omologi, în sexul heterogametic, comportamentul lor meiotic diferă de cel al autozomilor:

— În pahiten sau poate chiar din fazele anterioare, cromozomii de sex apar mai condensați decît autozomii și formează „vezicula de sex", zona cea mai densă a nucleului;

— La om, ca și la alte mamifere, *crossing-over*-ul lipsește deci nu există nici un schimb de material genetic între cei doi cromozomi de sex.

— În sexul homogametic — feminin — cei doi cromozomi X sînt complet omologi așa încît comportamentul lor este similar cu cel al autozomilor.

Rezultatul final al diviziunii meiotice îl constituie gameții. Spermatogeneza începe la pubertate și poate continua toată viața. Fiecare spermatozoid are 22 de autozomi și un singur cromozom de sex, fie X, fie Y.

Spermatogeneza este un proces continuu și ca atare în gonade există simultan toate etapele, fără ca aceasta să însemne că ea este sincronă în toți tubii seminiferi.

Meioza la femeie prezintă mai multe particularități:

— Primul stadiu are loc pînă în luna a VII-a de viață intrauterină. Apoi urmează o lungă perioadă, numită dictioten, care durează pînă la ovulație. Ea poate surveni oricînd între primul și ultimul ciclu ovulatoriu;

— Prima diviziune a meiozei se termină în momentul ovulației oocitului;

Datorită unei diviziuni inegale a citoplasmei, din diviziunea oocitului primar se formează un singur oocit secundar funcțional și un corp polar;

— În timpul fecundației are loc cea de-a doua diviziune meiotică. Din ea rezultă un ootid (ovul) funcțional și un corp polar. În același timp primul corp polar dă naștere la doi corpi polari. Fiecare ovul are 22 de autozomi și un singur tip de cromozom de sex — X.

Asortarea independentă a cromozomilor constituie una dintre explicațiile marii variabilități umane. S-a calculat că în urma segregării cromozomale se pot forma aproximativ 8 milioane de gameți genetic diferiți iar prin combinația gameților celor doi părinți rezultă 64×10^{12} tipuri deosebite de

descendenți. Se adaugă și *crossing-over*-ul, așa încît numărul posibil de combinații genetice pare să fie egal dacă nu cumva mai mare decît numărul atomilor din Univers.

SEGREGAȚIA ALELELOR

Pe un locus dat se găsește o singură genă. Deci într-un organism diploid există în cei doi cromozomi omologi două gene, care pot fi similare sau deosebite. În meioză are loc separarea cromozomilor omologi, așa încît un gamet are un singur cromozom din fiecare pereche, fie cromozomul matern, fie cromozomul patern. Numai întîmplarea hotărăște care dintre ei trece într-o celulă fiică și care trece în cealaltă celulă fiică. Șansa ca un gamet să fie constituit exclusiv din cromozomi paterni sau materni este neglijabilă. Dar chiar și în această eventualitate în urma *crossing-over*-ului ei vor avea o parte dintre genele celuilalt părinte.

Un exemplu va ilustra acest aspect. Un părinte are grupa sangvină AB iar celălalt părinte 0 (genele A și B sînt dominante față de alela pentru grupa sangvină 0, dar acest aspect nu are nici o importanță în contextul de față).

Copiii rezultați din această căsătorie vor avea fie grupa A, fie grupa B, dar niciodată pe ambele (fig. 65).

Fenomenul de segregație a alelelor este valabil pentru genele situate pe cromozomi diferiți și pentru genele situate departe una de alta pe același cromozom. În primul caz segregația genelor este explicată de segregația cromozomilor. În cel de-al doilea caz intervine *crossing-over*-ul.

Separarea genelor alele de genele nealele nu este întotdeauna ușoară. Ea presupune analiza unui număr suficient de mare de familii sau efectuarea unor investigații biochimice, care sînt și cele mai sigure.

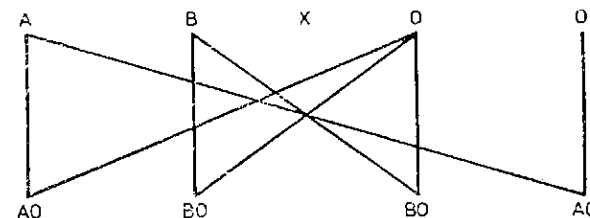


Fig. 65. Segregația alelelor.

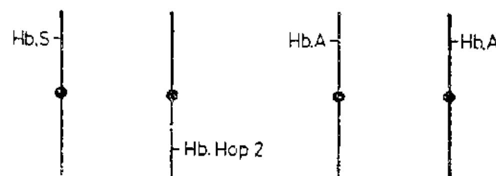


Fig. 66. Segregarea ipotetică a hemoglobinelor S, Hop 2 şi A (după Sparkes şi Wright, 1974).

Exemplul care urmează este edificator (după Sparkes şi Wright, 1974).

Unul dintre părinţi este dublu heterozigot pentru hemoglobina S şi pentru hemoglobina Hopkins 2, celălalt părinte este homozigot normal. Întrebarea este următoarea: sînt sau nu alele cele două mutaţii? Dacă ar fi alele toţi descendenţii ar trebui să fie heterozigoţi fie pentru Hb S, fie pentru Hb Hopkins 2 (fig. 66). Dacă nu sînt alele, frecvenţa celor două mutaţii printre descendenţi depinde de prezenţa *crossing-over*-ului. Printre copiii cuplului s-au întîlnit purtători ai ambelor mutaţii: Hb S şi Hb Hopkins, purtători ai Hb S, purtători ai Hb Hopkins 2 şi copii care nu aveau nici una dintre mutaţii. Pornind de la aceste observaţii, s-a presupus că mutaţiile nu sînt alele. Ipoteza a fost confirmată de studiul biochimic al celor două hemoglobine. Hb S este rezultatul unei substituţii în lanţul alfa iar Hopkins 2, al unei înlocuiri de aminoacizi în lanţul beta. Se ştie cert că genele care controlează sinteza celor două lanţuri nu sînt alele.

ASOCIAŢIE ŞI LINKAGE

Un individ poate prezenta mai des decît ar fi de aşteptat teoretic două caractere oarecare. Un exemplu tipic îl constituie asocierea grupei sangvine 0 cu ulcerul peptic. Purtătorii acestei grupe au de două ori mai multe şanse de a face ulcer decît purtătorii celorlalte grupe sangvine. Aşa cum am mai spus, semnificaţia asociaţiei este necunoscută.

Două caractere pot apărea frecvent împreună şi pentru că sînt condiţionate de gene în *linkage*. Iată cîteva date, cu caracter general.

Segregaţia genelor este condiţionată de poziţia lor în cromozomi. Genele situate în cromozomi diferiţi sau departe

una de alta pe acelaşi cromozom segregă independent. În ipoteza în care locii celor două gene sînt foarte apropiaţi unul de altul pe acelaşi cromozom, atunci genele nu mai segregă independent — genele sînt în *linkage* şi tind să se transmită împreună de-a lungul generaţiilor. Să presupunem că un individ este dublu heterozigot pentru două gene dominante, A şi B. Evident, alelele lor sînt recesive: a şi b. Cele două gene A şi B pot fi situate în acelaşi cromozom sau în cromozomi omologi:

$$\frac{A\ B}{a\ b} \qquad \frac{A\ b}{a\ B};$$

prima eventualitate se numeşte cis, cea de-a doua trans. În prima ipoteză genele A şi B provin de la un părinte iar a şi b de la celălalt părinte.

Detectarea *linkage*-ului poate fi realizată pe două căi:

— prin analiza unui mare număr de familii. Se cercetează modul de transmitere a două sau mai multe caractere, de obicei unul anormal şi unul normal, grupele sangvine, la toţi membrii unei familii. În acest fel s-au descoperit doar cîteva gene în *linkage*. Unul dintre cele mai cunoscute este cel dintre sindromul unghie-rotulă, sindrom caracterizat printr-un complex malformativ: unghii anormale, absenţa sau hipoplazia rotulei, malformaţii ale scheletului, leziuni renale. Sindromul se transmite dominant. El este condiţionat de o mutaţie situată foarte aproape de locusul AB0 — este vorba despre loci şi nu despre gene. Acest fapt a fost demonstrat de către J. H. Renwick şi S. D. Lawler (1955). Ei au studiat grupele sangvine AB0 într-o familie în care existau opt bolnavi cu sindromul unghie-rotulă. Arborele genealogic al familiei este redat în fig. 67.

Din căsătoria unei femei 00 cu un bărbat afectat AB au rezultat 12 copii, dintre care 5 anormali. Toţi copiii sînt fie A 0, fie B 0, deoarece mama este 00. Dar numai copiii B 0 sînt afectaţi. Se presupune deci că aceşti copii au primit gena B de la tatăl lor. Cei care au moştenit alela A au moştenit şi alela normală a mutaţiei. Acelaşi fenomen se observă şi în generaţia următoare. Copiii anormali au şi alela B. Cei doi copii afectaţi au grupa sangvină AB, deoarece au moştenit gena A de la mamă.

Prin aceeaşi metodă s-au mai descoperit alte cîteva gene în *linkage*. Între locusul pentru grupa sangvină Duffy şi un

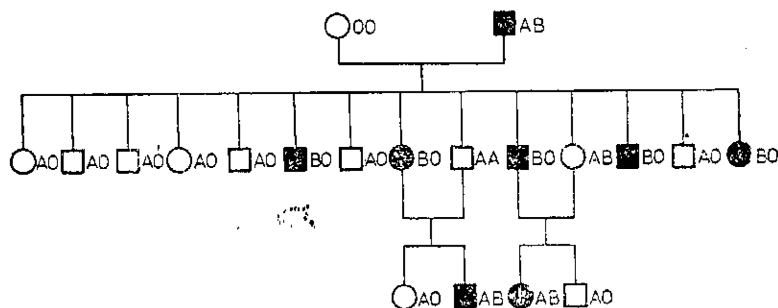


Fig. 67. Linkage între locusul ABO şi cel al sindromului unghie-rotulă (după Renwick şi Lawler, 1955).

anumit tip de cataractă şi între anomalia Pelger-Huet şi distrofia musculară.

— *linkage*-ul va fi stabilit cert prin metodele de localizare a genelor despre care am vorbit mai înainte.

Genele în *linkage* se transmit împreună dacă nu survine *crossing-over*-ul.

În cursul primei diviziuni meiotice cromozomii omologi se împerechează. Împerecherea este riguros exactă. Cromozomii se încrucişează formînd chiasmata. În această etapă cromozomii pot schimba segmente omoloage, proces numit *crossing-over*. *Crossing-over*-ul apare în medie o dată în fiecare cromozom pe generaţie — în timpul formării gameţilor. El are drept rezultat formarea unor tipuri noi de cromozomi.

Crossing-over-ul are o importanţă practică deosebită. Exemplul care urmează ilustrează această afirmaţie.

Pe cromozomul X se găsesc gene care consecutiv unor mutaţii determină tulburări binecunoscute, ca hemofilia sau daltonismul. Dacă nu ar exista *crossing-over*-ul, o mamă purtătoare a celor două mutaţii ar trebui să nască fie băieţi normali, fie băieţi dublu afectaţi. Fenomenul a fost observat de mai multe ori. Madlener a studiat o familie în care bunicul avea cele două tulburări. Fiica lui era deci dublu purtătoare. Ea a născut doi băieţi, ambii dublu afectaţi, şi o fată care la rîndul ei a avut un băiat daltonian cu hemofilie. Deci şi ea era dublu purtătoare. Se poate conchide că în această familie nu a survenit nici un *crossing-over* între cele două mutaţii — locii respectivi — şi alelele normale.

Crossing-over-ul a avut loc în altă familie, cea raportată de von Verschuer şi W. Roth (fig. 68). O purtătoare a mu-

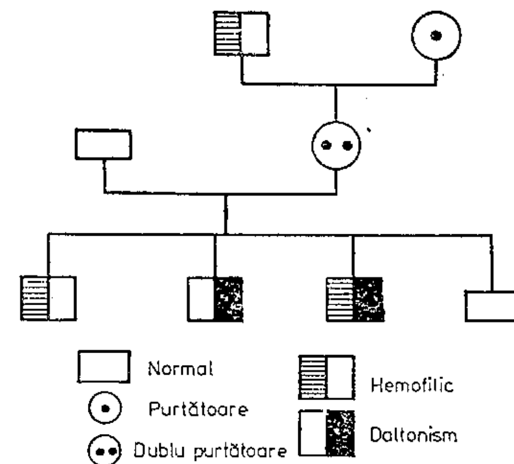


Fig. 68. Transmiterea hemofiliei şi a daltonismului. Crossing-over (după W. Roth, 1958).

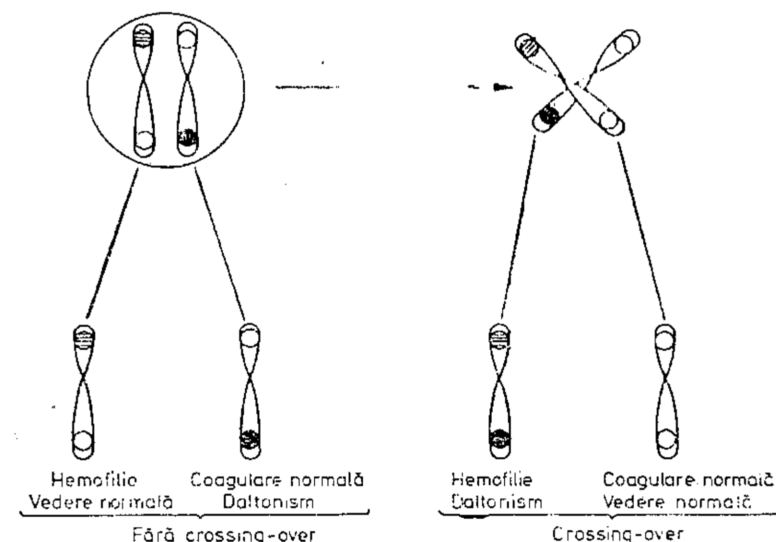


Fig. 69. Transmiterea hemofiliei şi a daltonismului (după O. v. Verschuer, 1964).

tației pentru daltonism s-a căsătorit cu un bărbat hemofilic. Fata rezultată din această căsătorie era dublu heterozigotă. Ea a născut patru băieți: primul a fost hemofilic; al doilea daltonian; al treilea hemofilic și daltonian iar al patrulea normal. Dacă nu ar fi survenit *crossing-over*-ul, mama ar fi avut fie băieți cu daltonism, fie cu hemofilie, deoarece una dintre mutații era situată pe un cromozom și cealaltă pe celălalt cromozom. După *crossing-over* au apărut doi cromozomi noi — unul cu ambele mutații și unul cu alela normală (fig. 69).

Hemoglobinele anormale au adus alte dovezi la fel de concludente. Astfel s-au descoperit trei hemoglobine cu două substituții pe lanțul β:

— Hb C Harlem este rezultatul unui *cross-over* între β^{s} (β6 Glu→Val) și $\beta^{Korle\ Bu}$ (β73 Asp→Asn);

— Hb C Ziguinchor s-a format printr-un *cross-over* între β^{s} și β Dhofar (β 58 Pro→Arg);

— Hb Arlington Park a apărut printr-un *cross-over* între β^{c} (β6 Glu→Lis) și $\beta^{N\ Baltimore}$ (β95 Lis→Glu).

CROMOZOMII DE SEX

Cromozomii de sex determină diferențierea gonadei. În prezența a doi cromozomi X progonada se diferențiază în ovar iar existența unui singur Y alături de unul sau mai mulți cromozomi X asigură dezvoltarea testiculelor. Femeia este astfel sexul homogametic iar bărbatul sexul heterogametic.

Determinarea sexului are loc în momentul fecundației. Fiecare spermatozoid are fie un cromozom X, fie un cromozom Y. Ovulele au un singur tip de cromozom de sex: X.

Tabelul 32

Determinarea sexului la om

Spermatozoid / Ovul	X	Y
X	XX	XY
X	XX	XY

Cu puține excepții, zigoții XX vor evolua în sens feminin iar cei XY în sens masculin.

Din punct de vedere morfologic și funcțional cei doi cromozomi de sex sînt diferiți.

Cromozomul X constituie 5% din genomul celor mai multe specii. După toate probabilitățile, acest cromozom a suferit puține modificări în cursul evoluției mamiferelor. Dovadă: pe acest cromozom se găsesc aceleași gene și la om și la celelalte specii de mamifere. În tabelul 33 figurează o parte dintre genele comune.

Tabelul 33

Genele legate de X la om și la alte mamifere

Om	Alte mamifere
Glucozo-6-fosfat-dehidrogenaza	cal, măgar, iepure, șoarece, cangur
Fosfoglicerat kinaza	cal, cangur
Hipoxantin-guanin-fosforibozil-transferaza	cal, șoarece
Factorul antihemofilic VIII	ciine
Factorul antihemofilic IX	ciine
Antigenul eritrocitar Xg	gibon
Rahitismul hipofosfatemic dominant	șoarece

Cu siguranță că această listă va crește pe măsură ce se vor descoperi noi gene situate pe acest cromozom.

A doua dovadă a adus-o studiul benzilor cromozomale. Cromozomul X uman se distinge prin prezența a trei benzi fluorescente pe brațele scurte și a două benzi pe brațele lungi. Aceeași structură este observată la numeroase alte specii. Se poate conchide astfel că gonozomul X a păstrat și secvența originară a genelor, chiar dacă în cursul evoluției au apărut la unele specii, ca la șoarece, și mici remanieri — inversiuni pericentrice.

Studiul cromozomilor X în serii de embrioni avortați spontan și la femeile cu disgenezii gonadale a impus mai multe concluzii:

— Dezvoltarea embrionului implică prezența gonozomului X. Produșii de concepție care nu au cel puțin un X sînt eliminați în primele stadii ale dezvoltării.

— Diferențierea gonadală normală (ovarogeneza) reclamă participarea a doi cromozomi X. Un singur X poate iniția

normale, sintetizînd deci o cantitate adecvată de testosteron, lipsește receptorul specific. Consecutiv acestei deficiențe embrionul se feminizează pasiv.

CROMATINA SEXUALĂ

Deoarece femeia are doi cromozomi X, cantitatea de proteine controlate de genele situate pe acești cromozomi ar trebui să fie încă odată mai mare decît cea observată la bărbat (XY). Pe aceeași linie de gîndire, femeile XXX sau XXXX sau bărbații XXY sau XXXY ar trebui să sintetizeze o cantitate de proteine egală cu numărul cromozomilor X. În realitate însă, nivelul enzimelor este același la toți indivizii, indiferent de numărul cromozomilor lor X. De aici se poate deduce că există un mecanism care egalizează cantitatea de produs final sintetizat.

Acest proces a fost numit de Muller (1932) compensarea dozajului genic și a fost atribuit unei serii ipotetice de gene modificatoare situate pe cromozomul X. În cursul anilor s-au emis numeroase alte ipoteze, dar toate au acum o valoare istorică.

Explicația fenomenului a fost adusă de Mary Lyon (1961—1962). Ea a pornit de la datele pe care i le oferea genetica modernă, îndeosebi citogenetica.

În 1949, Barr și Bertram au descoperit în nucleele celulelor nervului hipoglos de pisică o mică formațiune legată strîns de nucleol pe care au denumit-o satelit nucleolar. Formațiunea este prezentă numai la femele. Ulterior formațiunea a fost numită cromatină sexuală sau corpuscul Barr sau, așa cum se tinde acum, cromatina de sex X (fig. 70). Este o formațiune triunghiulară sau planconvexă, lipită de fața internă a membranei nucleului. Prezentă la toți indivizii cu doi cromozomi X, ea lipsește la indivizii cu un singur cromozom X. La organismele diploide numărul acestor formațiuni este egal cu numărul cromozomilor de sex X minus 1. Ca atare, studiul acestei formațiuni ne permite să stabilim numărul cromozomilor de sex X (tabelul 34).

Celulele (organismele) care au cromatină sexuală se numesc cromatin-pozitive; celulele (organismele) fără această formațiune se numesc cromatin-negative.

Nu toate celulele organismelor cu doi cromozomi X au cromatină sexuală. În general, se admite că un organism este

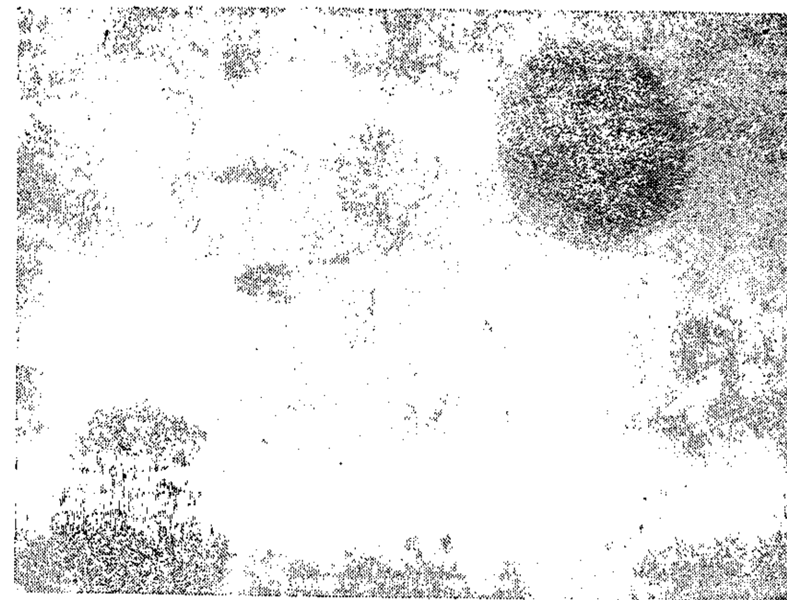


Fig. 70. Celulă cu cromatină sexuală.

Tabelul 34

Relația dintre numărul cromozomilor de sex X și numărul corpusculilor Barr

Numărul corpusculilor Barr	Cromozomi de sex
0	45, X-46, XY-47, XYY.
1	46, XX-47, XXY-48, XXYY
2	47, XXX-48, XXXY-49, XXXYY
3	48, XXXX-49, XXXXY
4	49, XXXXX.

cromatin-pozitiv dacă cel puțin 20% dintre celulele studiate (în mod obișnuit celule din mucoasa bucală) au cromatină sexuală. Dacă procentul este mai mic, sub 10%, se suspectează existența unui mozaic 45,X/46,XX.

La indivizii cu doi cromozomi X de dimensiuni normale, cromatina sexuală are un diametru de aproximativ 1 μ. La indivizii cu deleții X cromatina sexuală are dimensiuni mai mici sau similare cu cele observate la indivizii normali. La

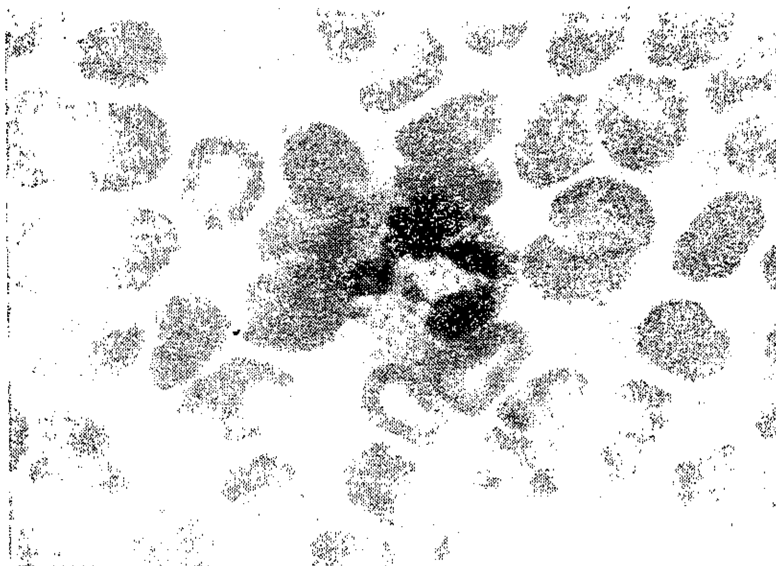


Fig. 71. Nodul de sex.

indivizii cu izocromozom pentru brațele lungi ale cromozomului X cromatina sexuală este mai mare decît la indivizii fara anomalii structurale ale aceluiași cromozom.

O formațiune cu aceeași semnificație este prezentă și în nucleul anumitor celule din seria albă — polimorfonucleare. Ea este formată dintr-un cap cu diametrul de aproximativ 1,5 μ prins printr-un filament subțire de corpul nucleului. Formațiunea a primit numele de „băț de tobă" (*drumstick*) sau de nodul de sex (fig. 71).

Frecvența formațiunii este relativ mică: 1/38 de neutrofile, la femeile normale. Ca și cromatina sexuală, lipsește la indivizii cu un singur cromozom de sex X.

În nucleele neutrofilelor apar și alte formațiuni care nu au însă specificitate de sex.

Deci dintre cei doi cromozomi de sex X prezenți în celulele somatice, unul este heterocromatic, celălalt nu. Cromozomul heterocromatic constituie cromatina sexuală. Se poate conchide că organismul are nevoie de un singur cromozom X. Celălalt sau ceilalți se inactivează.

În sprijinul acestei teorii vin observații convingătoare. Astfel, în culturile de leucocite, unul dintre gonozomii X încorporează timidina trițiată mai tîrziu decît restul cromozomilor. În ipoteza că există mai mulți cromozomi X, unul se replică sincron cu autozomii, în timp ce ceilalți se replică mai tîrziu. Un fenomen similar se observă și la bolnavii cu anomalii structurale X: izocromozomi, deleții, cromozom în formă de inel — cromozomul anormal este cel care se replică tardiv. O dovadă în plus o aduc, așa cum spuneam mai înainte, și dimensiunile cromatinei sexuale. La bolnavele cu sindrom Turner și izocromozom X, cromatina de sex X este mai mare decît la femeia normală, iar la cele cu deleții X, formațiunea este mai mică decît la femeile cu cariotip normal.

Alte argumente au fost oferite de genetica animală. Există, pentru a da un singur argument, la șoarece o mutație recesivă legată de sex care modifică pigmentația blănii. La femelele heterozigote, blana are un caracter particular: zone de pigmentație normală alternează cu zone de pigmentație anormală. Această diversitate este condiționată de distribuția gonozomilor X. În regiunile în care este activ X-ul cu alela normală și pigmentația este normală; în regiunile în care este activ X-ul cu alela mutantă pigmentația este anormală. Observația lui Ohno și Cattanach (1961) a adus o nouă și elegantă confirmare a concluziei expuse mai înainte. Ei au studiat pigmentația la animale cu o translocație — genele autozomale pentru pigmentație erau translocate pe X — și au remarcat că în zonele cu pigmentație normală cromozomul X cu fragmentul autozomal era inactivat.

Pe baza acestor fapte se poate conchide că:

— Unul dintre cei doi cromozomi X, cel care se replică tardiv, este inactiv;

— Inactivarea are loc la începutul vieții intrauterine, între a 16-a și a 18-a zi de viață, atunci cînd embrionul este constituit din 3 000—4 000 de celule;

— Inactivarea are un caracter întîmplător, poate fi inactivat fie X-ul patern, fie X-ul matern. Ulterior toate celulele fiice vor purta același X activ sau inactiv. S-ar putea însă ca primele inactivări să nu fie complet întîmplătoare: în unele țesuturi să se inactiveze X-ul patern iar în alte țesuturi X-ul matern;

— Inactivarea nu apare în celulele liniei germinale la femeie — oocitele nu au niciodată cromatină de sex X; se presupune că diferențierea oocitului reclamă participarea ambilor cromozomi X (fig. 72).

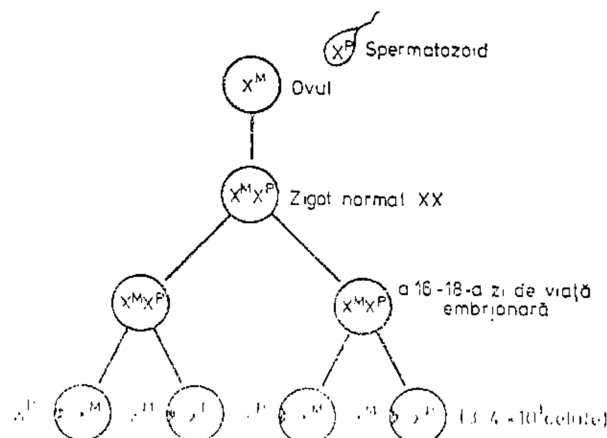


Fig. 72. Inactivarea întîmplătoare a unuia dintre cei doi cromozomi de sex X (după Miller, 1964).

— Începe să se contureze ipoteza că inactivarea celui de-al doilea X nu este totală. O regiune sau eventual cîteva mici regiuni situate pe brațele scurte scapă inactivării. Thermann și col. (1976) au remarcat că femeile cu doi cromozomi X fuzionați prin brațele scurte au o frecvență semnificativ mai mare de corpusculi Barr bipartiți (63%) decît femeile cu doi cromozomi X fuzionați prin brațele lungi (22%). Mohandos și col. (1979) au studiat steroid-sulfataza (o enzimă specificată de o genă situată pe brațele scurte ale cromozomului X) la femeile heterozigote pentru deficiența G-6-PD. Ei au remarcat că enzima este prezentă și în clonele normale și în cele deficiente;

— Inactivarea este în general definitivă.

Deci organismul are nevoie de un singur X. Mai exact, un singur X este indispensabil dezvoltării normale a organismului. Orice organism cu doi X — XX sau XXY — este un mozaic în care funcționează fie X-ul matern, fie cel patern.

Teoria lui Lyon explică trei fenomene (Thompson, 1965): compensarea dozajului; variabilitatea expresiei la femeile heterozigote; prezența la femei a două populații celulare.

COMPENSAREA DOZAJULUI GENIC

Glucozo-5-fosfat-dehidrogenaza este o enzimă ubicuitară a cărei sinteză este controlată de o genă legată de X. Nivelul enzimei este același la femeile și la bărbații normali. Rămîne

neschimbat și la indivizii cu mai mulți gonozomi X. De asemenea, cantitatea de globulină antihemofilică este similară la cele două sexe.

VARIABILITATEA EXPRESIEI LA FEMEILE HETEROZIGOTE

Heterozigoții pentru o mutație autozomală au valori enzimatice intermediare între cele ale homozigoților normali și cele ale homozigoților anormali. Dacă mutația este situată pe un cromozom de sex X, conform teoriei lui Lyon, femeile heterozigote pot prezenta valori extrem de variate, de la ceva mai mult de 0% la aproape 100%. Nivelul enzimei este condiționat de numărul celulelor în care există X-ul activ, cu alela normală. Uneori poate fi inactivat aproape exclusiv un singur cromozom, fie cel matern, fie cel patern. Dacă este inactivat X-ul cu alela anormală femeia heterozigotă nu prezintă nici un fel de tulburări. În cazul în care se inactivează preferențial X-ul cu alela normală pot apărea fenomene clinice. De pildă 2% dintre femeile heterozigote pentru mutația pentru hemofilie prezintă tulburări clinice — au hemofilie.

EXISTENȚA A DOUĂ LINII CELULARE

Conform teoriei prezentate mai sus, femeile heterozigote pentru o mutație recesivă legată de sex trebuie să aibă două linii celulare.

S-a demonstrat, de pildă, că femeile heterozigote pentru deficiența G-6-PD au o populație eritrocitară normală și o populație cu activitate enzimatică nulă. Și mai concludentă este observația următoare. S-a studiat o femeie dublu heterozigotă, pentru G-6-PD și pentru Hb S, și s-a văzut că ea avea o dublă populație, una normală și una cu deficiența G-6-PD și cu Hb S.

În sfîrșit, s-au făcut culturi de fibroblaste de la femei heterozigote pentru deficiența G-6-PD, tipurile A și B, și s-au descoperit clone cu celule exclusiv de tip A sau exclusiv de tip B.

Pornind de la aceste date este ușor de înțeles de ce femeile heterozigote pentru mutații recesive legate de sex au uneori mici anomalii clinice. Iată un singur exemplu.

Albinismul ocular este o formă bine definită de albinism. La femeile heterozigote apar modificări sugestive — transparenţa irisului.

Cu toate acestea, teoria lui Lyon lasă unele probleme nerezolvate. De pildă, sistemul eritrocitar Xg nu prezintă modificările prevăzute teoretic. Apoi, dacă un singur X este suficient pentru dezvoltarea organismului, atunci femeile 45,X ar trebui să fie fertile şi nu sînt. La şoarece însă femelele XO sînt fertile.

Teoria lui Lyon ne permite să înţelegem mai bine unele aspecte ale diferenţierii sexuale. Se ştie de mult că, sub raport biologic, bărbatul este sexul slab. În toate grupele de vîrstă, mortalitatea bărbaţilor depăşeşte pe cea a femeilor. S-ar putea ca avantajul biologic al femeilor să rezulte, printre altele, dintr-o compensare „defectuoasă" a dozajului genic. Prezenţa în dublă doză a unor gene ar putea asigura, cel puţin în unele cazuri, o producţie crescută de proteine. Ipoteza este susţinută de cîteva exemple, mai mult sau mai puţin convingătoare. Astfel, se crede că rezistenţa mai mare a femeilor la infecţii se datoreşte faptului că ele au două gene legate de sex care intervin în sinteza imunoglobulinelor şi că ele le-ar utiliza pe amîndouă.

S-a sugerat apoi că inactivarea unuia dintre cei doi X asigură şi alte avantaje femeii. Astfel, heterozigotele pentru deficienţa G-6-PD au un cert avantaj selectiv, dacă trăiesc într-o regiune malarică. Apoi, dacă sînt expuse unui agent hemolitic, datorită eritrocitelor normale, vor face o anemie mai puţin severă.

Teoria lui Lyon răspunde multora dintre întrebările pe care le pune genetica. Totuşi ea nu aduce explicaţia fenomenului fundamental: de ce se inactivează un singur cromozom?

Fenomenul nu are pînă acum nici o explicaţie satisfăcătoare. Conform uneia dintre ipoteze, pe cromozomul X s-ar găsi mai multe situri receptoare care ar putea fi activate de molecule nespecifice. Cromozomii neactivaţi s-ar inactiva spontan.

CROMATINA DE SEX F (CORPUSCULUL F)

După colorare cu chinacrină (un medicament antimalaric), o parte dintre celulele bărbaţilor normali prezintă în lumină fluorescentă un corpuscul intens luminos, corpusculul F. El

este expresia citologică a cromozomului Y, mai exact a porţiunii distale a braţelor lungi. Această regiune este constituită din heterocromatină constitutivă.

La indivizii cu doi cromozomi Y se observă două puncte fluorescente. Această metodă permite astfel detectarea rapidă a bărbaţilor YY.

Cu ajutorul aceleiaşi metode pot fi identificaţi şi spermatozoizii Y.

ANOMALIILE CROMOZOMALE

Anomaliile cromozomale pot fi clasificate în două grupe: anomalii numerice; anomalii structurale.

ANOMALIILE NUMERICE

Celulele somatice au două genoame sau două seturi de cromozomi. Ele sînt diploide. Gameţii au un singur genom: sînt haploizi. Multiplicarea numărului de seturi se numeşte poliploidie: triploidie=cu trei seturi cromozomale (69 de cromozomi); tetraploidie=cu patru seturi de cromozomi (92 de cromozomi). Genoamele pot fi similare (autopoliploidie) sau diferite (alopoliploidie). Ultimele se formează prin hibridizare.

Poliploidia este excepţional de rară la om. Ea poate să apară fie în mitoză, fie în meioză. O anomalie a mitozei duce, pornind de la celule diploide, la celule tetraploide. O anomalie a meiozei are drept rezultat formarea unui gamet diploid care prin conjugare cu un gamet normal, haploid, va genera un zigot triploid. Imensa majoritate a produşilor de concepţie triploizi vor fi eliminaţi la începutul vieţii intrauterine. Gradele mai mari de poliploidie sînt întotdeauna letale.

Poliploidia este întîlnită în unele celule normale (din ficat) şi frecvent în celulele tumorale.

Mult mai des observată este aneuploidia. Organismele sau celulele cu un număr neregulat de cromozomi — fie cu unul sau mai mulţi în plus, fie cu unul sau în mod excepţional cu doi mai puţin — se numesc aneuploide. Prezenţa unui cromozom suplimentar poartă numele de trizomie. Lipsa unui

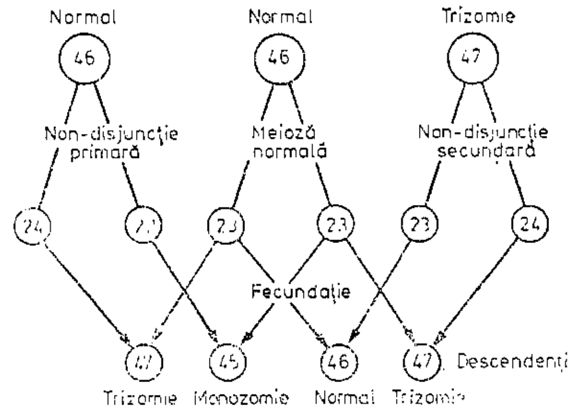


Fig. 73. Non-disjuncție meiotică. Formarea gameților aneuploizi respectiv, după fecundație, a zigoților aneuploizi (după Harnden, 19[illegible]).

cromozom dintr-o pereche dată se numește monozomie. Organismele sau celulele cu aceste aberații sînt trizomice, respectiv monozomice.

Aneuploidia este rezultatul neseparării anumitor cromozomi în timpul meiozei sau a cromatidelor în cursul anafazei mitotice — non-disjuncție. Non-disjuncția poate să aibă loc fie în spermatogeneză, fie în ovogeneză. Dacă accidentul survine în spermatogeneză se formează două feluri de gameți: unul cu 22 și unul cu 24 de cromozomi. Același accident petrecut în ovogeneză are consecințe diferite. Unul dintre seturile de cromozomi va migra în cel de-al doilea corp polar și va fi eliminat. Rezultă așadar un singur tip de gameți anormali: fie cu 22, fie cu 24 de cromozomi. Din uniunea unui gamet aneuploid cu un gamet normal se formează un gamet monozomic sau trizomic. În mod excepțional se unesc doi gameți aneuploizi (fig. 73).

Non-disjuncția poate să aibă loc în gonadele unui individ cu număr normal de cromozomi și atunci se numește non-disjuncție primară sau în gonadele unui individ citogenetic anormal, trizomic, de pildă — non-disjuncție secundară.

Se deosebesc trei tipuri de non-disjuncție. Prima este non-disjuncția simplă. Pentru a explica acest tip de aberație să pornim de la premisa că ea privește cromozomii de sex. Ano-

Tabelul 35

Tipurile de zigoți rezultați în urma unei non-disjuncții meiotice

Spermatozoid		Meioză normală		Non-disjuncție în meioza I		Non-disjuncție în meioza II		
Ovuți		X	Y	XY	O	XX	YY	O
Meioza normală	X	XX	XY	XXY	XO	XXX	XYY	XO
Non-disjuncție în meioza I și II	XX	XXX	XXY	XXXY	XX	XXXX	XXYY	XX
	O	XO	YO	XY	OO	XX	YY	OO

malia poate surveni fie în cursul spermiogenezei, fie în timpul oogenezei. Rezultatele se văd în tabelul 35.

O parte dintre acești zigoți nu sînt viabili: YO-OO-YY:
— non-disjuncția dublă — accidentul apare și în spermiogeneză și în oogeneză;
— non-disjuncția succesivă apare, așa cum sugerează și numele, și în prima și în a doua diviziune meiotică. Dacă eroarea a survenit în oogeneză se formează gameți XXX și XXXX și prin fecundație zigoți XXXY, XXXXY, XXXX și XXXXX, iar dacă a avut loc în spermiogeneză rezultă gameți XXY, XYY, XXYY și apoi zigoți XXXY-XXYY-XXXYY.

NON-DISJUNCȚIA MITOTICĂ

Non-disjuncția poate surveni și în mitoză. Neseparea cromatidelor surori duce la formarea de celule fiice cu 45 și 47 de cromozomi. În funcție de structura inițială a zigotului, de momentul în care a survenit accidentul și de numărul accidentelor rezultă organisme cu două sau mai multe linii celulare. Aceste organisme se numesc mozaicuri. Nu toate liniile celulare supraviețuiesc însă. Unele (de exemplu, YO sau YY) sînt eliminate. Iată două exemple de mozaicuri. În

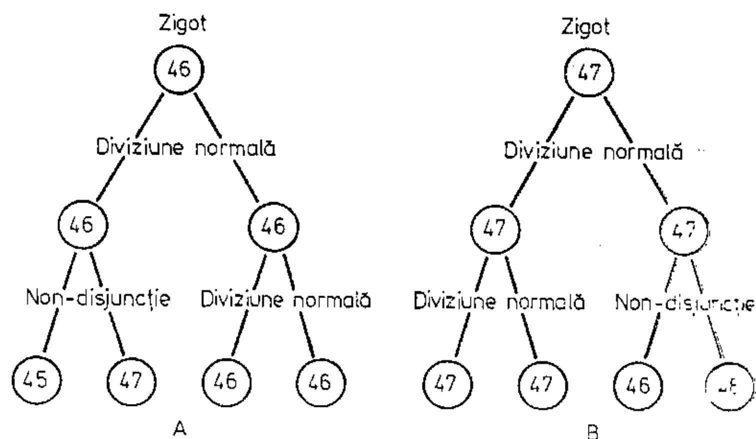


Fig. 74. Exemple de mozaicuri: a = zigot normal; b = zigot trizomic.

primul, zigotul avea inițial o constituție cromozomală normală, în cel de-al doilea era trizomic (fig. 74).

TIPURILE DE ANOMALII STRUCTURALE

a) *Deleția* înseamnă pierderea unei părți din materialul cromozomal. Ea poate fi terminală sau interstițială. Prima, numită uneori și deficiență, presupune apariția unei singure rupturi urmată de refacerea extremității rupte. Fragmentul fără centromer va fi rezorbit în citoplasmă (fig. 75). Cea

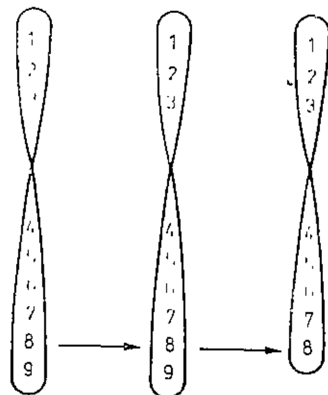


Fig. 75. Deleție terminală.

15. D. Fl.

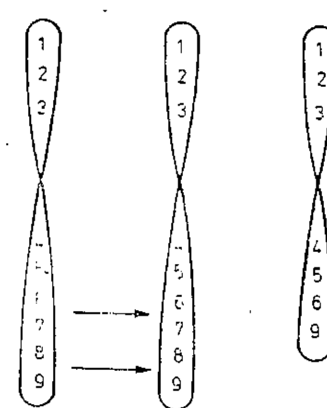


Fig. 76. Deleție interstițială.

de-a doua — deleție interstițială — presupune prezența a două rupturi, eliminarea fragmentului cuprins între punctele de ruptură și sudarea extremităților rămase libere (fig. 76).

Rămîne totuși neclară problema delețiilor terminale. Un cromozom fără extremități normale (telomere) este instabil, adică nu poate împiedica apariția altor modificări. De aceea delețiile terminale sînt rare.

Uneori se rup ambele capete ale cromozomului. Extremitățile se pierd iar capetele fragmentului se unesc. În acest fel se formează cromozomii în formă de inel.

b) *Duplicația*. Prin duplicație se înțelege prezența suplimentară a unui fragment cromozomal. Genele fragmentului pot fi dispuse în ordinea în care sînt dispuse și genele cromozomului gazdă — dublicație în tandem — sau în ordine inversă — duplicație în tandem inversată.

Organismele cu o duplicație sînt astfel hiperploide. Duplicațiile sînt rezultatul unui *crossing-over* inegal.

c) *Izocromozomul* reprezintă o formă particulară de duplicație-deficiență. Este produsul unei diviziuni anormale a centromerului. Normal centromerul se divide longitudinal. Dacă se divide transversal se formează doi cromozomi acrocentrici. Cromatidele lor formează doi cromozomi metacentrici, în timpul metafazei următoare. Există, astfel, izocromozomi pentru brațele lungi sau brațele scurte ale unui cromozom dat. Orice izocromozom este format din duplicația unor brațe și deleția altora. Deși teoretic din diviziunea anormală a unui cromozom ar trebui să rezulte doi izocromozomi,

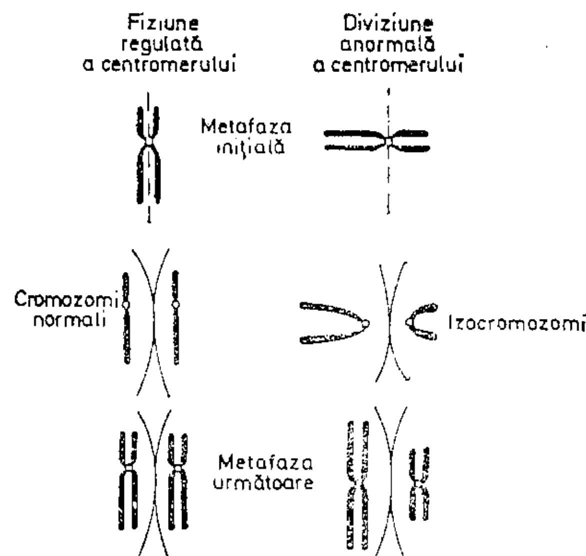
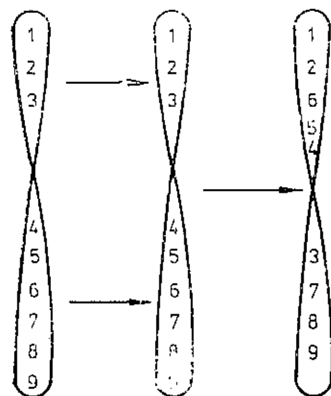


Fig. 77. Izocromozom. Mecanismul de formare al unui izocromozom implică diviziunea anormală a centromerului.

practic se formează numai unul. Cel de-al doilea, lipsit de centromer, se pierde (fig. 77).

În patologia umană s-au descris izocromozomii numai pentru cromozomii X, Y, 21 și D.

d) *Inversia* înseamnă rotirea unui fragment cromozomal cu 180°, așa încît genele se rearanjează într-o ordine inversă celei inițiale. Se deosebesc două tipuri de inversie:


Fig. 78. Inversie pericentrică.

— pericentrică: implică două rupturi, de-o parte și de cealaltă a centromerului, urmată de inversarea fragmentului (fig. 78);

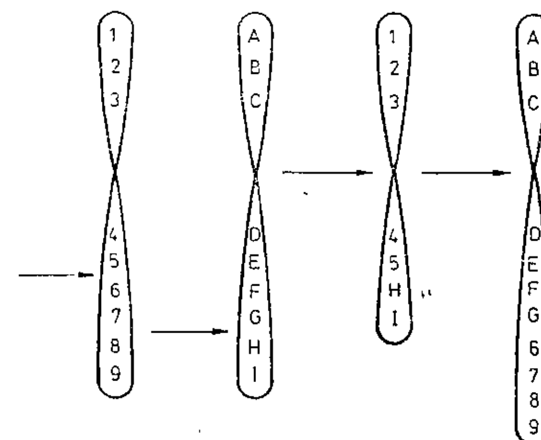
— paracentrică: este rezultatul unei duble rupturi de o singură parte a centromerului urmată de inversarea fragmentului. În acest caz morfologia cromozomului nu se modifică. În primul tip se schimbă și poate avea drept rezultat transformarea unui cromozom acrocentric într-unul metacentric.

e) *Translocația* înseamnă schimbarea poziției unor segmente cromozomale. Se deosebesc următoarele tipuri de translocație:

— reciprocă: schimbul reciproc de material genetic. Această remaniere presupune apariția a două rupturi, urmată de schimbarea poziției fragmentelor. Din asemenea procese rezultă fie cromozomi cu un singur centromer, fie un cromozom dicentric și unul acentric, ambii fiind eliminați (fig. 79);

— nereciprocă: transferul de material este unidirecțional. Acest tip de translocație reclamă trei rupturi — una într-un cromozom și două în celălalt. Fragmentul desprins din ultimul cromozom va fi inclus între capetele libere ale primului;

— robertsoniană sau fuziune centrică: dacă în doi cromozomi apar rupturi în regiunea centromerică și dacă fragmentele cu centromer se unesc se formează un cromozom nou. Fragmentele acentrice se pierd. Din fuziunea centrică a doi cromozomi acrocentrici se formează un metacentric iar din


Fig. 79. Translocație reciprocă.

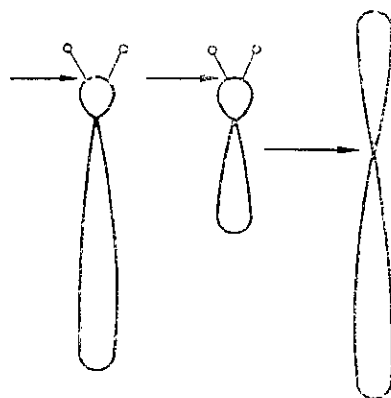


Fig. 80. Fuziune robertsoniană.

fuziunea unui cromozom acrocentric mare cu un acrocentric mic rezultă un submetacentric. Ambele translocații sînt întîlnite în populațiile umane (fig. 80). Cei mai mulți dintre metacentricii robertsonieni sînt dicentrici. Numai unul este însă activ. Acești cromozomi sînt stabili în cursul mitozei.

FACTORII CARE INFLUENȚEAZĂ APARIȚIA ANOMALIILOR CROMOZOMALE

Se știe încă destul de puțin despre factorii care favorizează apariția aberațiilor cromozomale. Ei pot fi împărțiți în: factori genetici și factori mezologici.

1) *Factorii genetici.* Par să joace un rol minor în geneza anomaliilor cromozomale. Dacă non-disjuncțiile ar fi favorizate de factori genetici specifici atunci ar trebui să existe o anumită concentrare familială. Or, în imensa majoritate a cazurilor, părinții copiilor cu anomalii numerice sînt citogenetic normali. S-au raportat doar cîteva excepții. Astfel, s-a observat un mozaic dublu-triplu-X la mama unui copil cu sindrom Klinefelter-47,XXY. Altcori, în aceeași familie existau doi indivizi citogenetic anormali: un copil cu trizomie 21 avea o mătușă cu sindrom Turner; în altă familie, un băiat 49,XXXXY avea o mătușă cu trizomie 21. Tatăl copilului a murit de leucemie mieloidă.

Nu există o explicație a acestor fenomene. S-ar putea să fie întîmplătoare, deși s-a sugerat de mai multe ori că non-

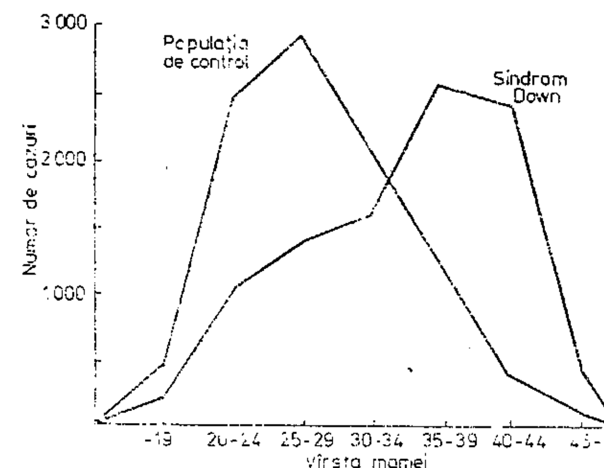


Fig. 81. Distribuția vîrstei materne în 9411 cazuri de sindrom Down și în populația de control (după Penrose și Smith, 1966).

disjuncțiile ar fi condiționate de o mutație specifică. Tot o genă anormală ar explica și existența mozaicurilor familiale.

2) *Factorii mezologici.* Despre aceștia se știe ceva mai mult. Încă de la sfîrșitul secolului trecut, Shuttleworth (1895) a remarcat că aproape jumătate dintre copiii cu mongolism (trizomie 21) sînt ultimii născuți în familii cu copii numeroși. Ulterior s-a demonstrat că există o relație directă între vîrsta mamei și riscul de a naște un copil cu trizomie 21. Astfel, frecvența sindromului este de 1/2 300 printre mamele sub 20 de ani, crește la 1/1 600 printre mamele de 20—24 de ani, și ajunge la 1/100 printre mamele trecute de 40 de ani (fig. 81).

Vîrsta înaintată a mamei favorizează în general non-disjuncția. Numeroase cercetări au stabilit că mamele în vîrstă nasc mai des decît mamele tinere copii cu trizomie 13, 18, XXX și XXY. O relație similară a fost observată și la soarece.

Modul în care vîrsta înaintată a mamei favorizează non-disjuncția este încă incert. S-au avansat mai multe ipoteze:

— diminuarea frecvenței chiasmatelor și creșterea univalenților în oocite;

— persistența nucleolului în timpul profazei meiotice, persistență care ar împiedica împerecherea cromozomilor omologi.

Non-disjuncţia ar mai fi favorizată de îmbătrînirea oocitului. La femeile cu cicluri lungi şi neregulate anomaliile cromozomale ale oului sînt semnificativ mai frecvente decît la femeile cu ciclu normal. Îmbătrînirea oocitului ar putea fi şi consecinţa unei fecundaţii tardive. Presupunerea porneşte de la observaţia experimentală că fecundaţia tardivă măreşte considerabil numărul avorturilor spontane citogenetic anormale.

Cu toate acestea, începe să se contureze concluzia că şi vîrsta tatălui are un rol important în apariţia anomaliilor numerice. Datorită metodelor de bandare s-a stabilit că în 24% dintre cazurile de sindrom Down cromozomul 21 supranumerar provine de la tatăl copilului. Descoperirea va duce la o revizuire a riscului bazat exclusiv pe vîrsta mamei.

Există numeroase condiţii mezologice care induc aberaţii cromozomale.

Sînt cert mutagene radiaţiile ionizante. Iradierile acute sau cronice, totale sau parţiale, induc numeroase anomalii cromozomale. Aceste anomalii au fost găsite la medicii şi la personalul auxiliar din serviciile de radiologie, la bolnavii iradiaţi în scop terapeutic sau diagnostic, la muncitorii care în timpul războiului au pictat cadranele de bord ale avioanelor cu coloranţi conţinînd radiu şi mezoteriu, la persoanele care au supravieţuit bombardamentelor atomice de la Hiroshima şi Nagasaki.

Anomaliile cromozomale apar chiar după doze foarte mici, de pildă după 25 rads. S-a văzut apoi că incidenţa anomaliilor cromozomale în limfocitele indivizilor iradiaţi este similară cu cea observată în limfocitele care au primit aceeaşi doză *in vitro*. După doze foarte mari administrate *in vitro* (de 300 rads) în fiecare celulă apar anomalii cromozomale. Anomalii similare trebuie să fi avut şi supravieţuitorii bombardamentelor atomice din Japonia.

Din punct de vedere genetic cea mai importantă problemă este cea a „destinului" anomaliilor cromozomale. Este vorba numai despre cele vizibile. În mod obişnuit toate anomaliile cromozomale stabile — cele care includ remanierile monocentrice — se transmit din generaţie în generaţie celulară. Anomaliile instabile — cromozomii dicentrici şi în formă de inel — se pierd în cursul diviziunilor celulare, deoarece centromerul dublu sau autofuziunea distală face imposibilă separarea metafazică.

Cu toate acestea, o parte dintre limfocite au o viaţă lungă şi rareori se divid în organism. De aceea multe aberaţii cromozomale pot fi descoperite după foarte mulţi ani de la iradiere: 30 de ani după radioterapia colului uterin, 20 de ani după radioterapie în spondilita anchilozantă, 20 de ani sau mai mult după bombardamentele atomice.

În condiţii experimentale, la drosofilă şi la şoarece, iradierea măreşte frecvenţa non-disjuncţiilor. Se poate presupune că anomalii similare survin şi la om. Nu există însă nici o dovadă concludentă. Uchida (1971) a constatat că femeile iradiate preconcepţional nasc mai frecvent decît femeile din aceeaşi grupă de vîrstă, dar neiradiate, copii cu trizomie 21. În acelaşi timp a observat că vîrsta medie a mamelor iradiate care au născut copii cu trizomie 21 era semnificativ mai mare decît media seriei de control. De aici se presupune că radiosensibilitatea se corelează pozitiv cu vîrsta maternă. Trebuie remarcat că în alte cercetări această corelaţie a fost absentă.

Radiaţiile neionizante (razele ultraviolete şi ultrasunetele) nu au efecte mutagene.

Există multe substanţe chimice cu efecte mutagene. Este cert că nu s-a detectat decît o mică parte dintre ele. Ar fi şi imposibil, deoarece există mai mult de 4 milioane de compuşi chimici. Numai cîteva zeci de mii sînt utilizaţi pe scară largă.

În tabelul care urmează sînt menţionaţi o parte dintre compuşii chimici capabili să producă anomalii cromozomale *in vitro*.

Tabelul 36

Categorii de compuşi chimici care produc anomalii cromozomale în celulele umane cultivate *in vitro* (după Evans, 1975)

Antibiotice	streptonigrin-daunomicin
Antiparazitici	hicantona
Sedative	scopolamina
Tranchilizante	clorpromazina
Halucinogene	acid lisergic
Analogi ai acizilor nucleici	citozin-arabinozidaza
Produse alimentare	cafeina
Insecticide	trietilenmelamina
Fungicide	captan
Substanţe chimice anorganice	arsenic

Mulți dintre agenții incluși în lista de mai sus par să fie mutageni doar *in vitro*.

Acțiunea mutagenă a virusurilor este incertă. Se pare că în hepatita epidemică apare un număr semnificativ crescut de rupturi. În rujeolă, rubeolă, varicelă, oreion, rezultatele sînt discordante. Dar chiar cînd apar, anomaliile cromozomale sînt tranziente.

S-a discutat foarte mult despre variațiile geografice, anuale și sezoniere ale frecvenței anomaliilor cromozomale. Diferențele geografice par reale. Explicația lor este necunoscută. Ea ar putea fi adusă de structura genetică diferită a populațiilor sau de existența unor factori locali care ar favoriza non-disjuncția.

Foarte controversată este problema variațiilor anuale și sezoniere. Discuția a început în 1962 cînd Collmann și Stoller au publicat rezultatele unei cercetări efectuate în Australia între 1942 și 1957. Ei au observat că incidența sindromului Down creștea la fiecare 5—7 ani. Variațiile anuale au fost atribuite frecvenței hepatitei epidemice. Cercetările ulterioare nu au mai confirmat această observație. La fel de incertă este relația dintre frecvența anomaliilor cromozomale și sezon. Deși s-a sugerat de mai multe ori existența unei asemenea asocieri — mamele care au născut copii cu trizomie 13 și 18 au conceput mai des în timpul iernii — s-a demonstrat că la baza fenomenului stă vîrsta înaintată a mamei, mai exact că mamele care au conceput iarna au o vîrstă mai mare decît mamele care au conceput vara.

Mult timp s-a crezut că aberațiile cromozomale structurale sînt întîmplătoare. Datele mai noi sugerează, dimpotrivă, că cele mai multe anomalii apar în regiunile heterocromatice. Fenomenul este evident în cazul aberațiilor induse de substanțe chimice. Astfel, mitomicina C induce rupturi preferențial în benzile C ale cromozomilor 1,9 și 16. Radiațiile ionizante induc leziuni îndeosebi în benzile G și Q negative.

MODIFICĂRI CROMOZOMALE SPONTANE

Mai multe studii au fost consacrate frecvenței anomaliilor cromozomale numerice și structurale în populații care nu par să fi fost expuse unor agenți mutageni cunoscuți. Aceste cercetări au demonstrat că numărul celulelor hipomodale (cu mai puțin de 46 de cromozomi) crește paralel cu vîrsta. Astfel, frecvența celulelor hipomodale crește de la 2,8—2,9% la

femeile de 15—34 de ani la 8,5% la femeile trecute de 75 de ani. Se pierde în mod preferențial cromozomul X, probabil cromozomul X inactiv, deși ipoteza nu a fost verificată. La bărbați este eliminat de obicei, cromozomul Y. Aceasta nu înseamnă că nu se pierd și autozomi. Probabil că da, dar eliminarea lor este incompatibilă cu supraviețuirea celulei (Evans, 1975).

Anomaliile structurale spontane sînt rare. De pildă, frecvența cromozomilor dicentrici în celulele indivizilor normali care nu au fost expuși decît unor iradieri minime, în cursul investigațiilor radiologice de rutină, este extrem de mică: de 1 în $4,0 \times 10^3$ celule. Frecvența rupturilor cromatidiene este de 1% — o ruptură la o sută de celule.

Deși există o tendință ca frecvența aberațiilor cromozomale să crească cu vîrsta, creșterea este lentă.

FRECVENȚA ANOMALIILOR CROMOZOMALE

Hertig (1967) a calculat că 15% dintre oocite nu sînt fecundate; 10—15% sînt fecundate, dar nu se implantează și că din restul de 70—75% numai 42% supraviețuiesc destul de mult timp pentru a suprima menstruația. Apoi dintre sarcinile recunoscute ca atare, o mare parte eșuează, aproximativ 25%. Aproape 2/5 dintre ele se termină în primele patru săptămîni de viață intrauterină.

Fenomenul este comun tuturor speciilor de mamifere.

Majoritatea embrionilor avortați prezintă malformații majore. Procentul malformațiilor este maxim — 88% — printre embrionii mai mici de 5 săptămîni și scade la 32% printre embrionii de 7—12 săptămîni.

Malformațiile embrionare sînt condiționate de factori variați. Un loc deosebit de important revine anomaliilor cromozomale. Numeroase cercetări efectuate asupra embrionilor eliminați spontan au arătat că procentul aberațiilor cromozomale este invers proporțional cu vîrsta embrionului: scade de la 78% printre embrionii de 2 săptămîni la 23% printre cei ce au depășit vîrsta de 2 luni. Marea majoritate a produșilor de concepție citogenetic anormali au o anomalie numerică. În ordinea frecvenței se observă trizomii E (18,3%), monozomii X (17,7%), trizomii C (8,8%) și trizomii G (9,8%). Foarte rare sînt trizomiile B și F — sub 1%. Relativ frecvente sînt și triploidiile.

Din analiza datelor se desprind cîteva concluzii importante:

— monozomiile autozomale antrenează moartea timpurie a embrionului;

— trizomiile autozomale au o frecvență diferită: unele mai mare — C, D, E și G — altele mai mică — A, B și F. Numai cîteva permit dezvoltarea produsului de concepție, dar cu prețul unor malformații severe;

— sînt surprinzător de frecvente monozomiile X. Așa se explică de ce fetele 45,X sînt mult mai rare decît băieții 47,XXY, deși teoretic anomalia 45,X ar trebui să fie mai frecventă decît 47,XXY.

Tipul de anomalie cromozomală condiționează și timpul de supraviețuire al embrionului. Embrionii cu trizomii A, B și F supraviețuiesc doar trei săptămîni iar cei cu duble trizomii și mai puțin. Ajung pînă la nouă săptămîni embrionii cu triploidii 69,XXX și 69,XXY.

Cea mai mare parte dintre anomaliile cromozomale prezente la embrionii eliminați spontan sînt accidente sporadice apărute în cursul gametogenezei. De aceea părinții au cariotip normal.

Ajung la termen deci numai o mică parte dintre produșii de concepție citogenetic anormali. Șansa de a supraviețui depinde de tipul anomaliei și de cromozomul implicat. În general, supraviețuiesc produșii de concepție cu trizomii gonozomale, cu trizomii ale unora dintre cromozomii grupei C, cu trizomii 13, 18 și 21, precum și un procent relativ redus dintre embrionii 45,X. În total 1,5% dintre toți nou-născuții au o aberație cromozomală detectabilă cu tehnica clasică; nu se știe încă care este incidența modificărilor cromozomale fine (tabelul 37).

Tabelul 37

Incidența anomaliilor cromozomilor de sex în serii de nou-născuți vii
(după Ratcliffe, 1975)

Anomalia	Procentul
47,XYY	0,09
47,XXY	0,10
Altele: mozaicuri și inversiuni Y, Yp-.	0,06
45,X	0,01
47,XXX	0,09
Altele: mozaicuri diverse	0,03

În total 2,6‰ dintre băieți și 1,3‰ dintre fete au o aberație gonozomală.

Dintre anomaliile autozomale una singură este importantă — trizomia 21. Celelalte sînt extrem de rare, așa cum reiese din tabelul 38.

Tabelul 38

Incidența aberațiilor autozomale în serii de nou-născuți vii
(după Ratcliffe, 1975)

Anomalia	Procentul
Trizomia 21	0,10
Trizomia 13	0,01
Trizomia 18	0,01

În total 1,2‰ dintre nou-născuți au o asemenea anomalie.

Monozomiile autozomale sînt absente, deoarece sînt incompatibile cu dezvoltarea embrionului. În mod cu totul excepțional s-au raportat copii cu malformații extrem de grave cu mozaicuri — normal/monozomie.

Prin metodele de bandare s-au descoperit sindroamele de monozomie și trizomie parțială. Incidența lor este necunoscută. După toate probabilitățile, este extrem de mică.

Remanierile structurale — translocațiile echilibrate și inversiile — sînt și ele rare. Cea mai obișnuită este fuziunea dintre doi cromozomi D: 0,07%. Ceva mai rară este translocația D/G : 0,02%. Celelalte tipuri de translocație sînt prezente la 0,8% din populație.

Incidența medie a acestor remanieri este de 2‰.

În serii selecționate frecvența aberațiilor cromozomale crește considerabil.

Rezultatele sînt condiționate de criteriul folosit. În general, s-au studiat serii constituite din indivizi handicapați mintal instituționalizați sau serii formate din delincvenți înalți și deficienți mintal.

Astfel, incidența bărbaților YY oscilează, în medie, între 1 și 3% în grupele formate din delincvenți. Dacă delincvenții sînt și înapoiați mintal procentul crește. În aceleași serii se găsește un procent semnificativ mai mare decît în populația generală de bărbați XXY și mai ales de bărbați 48,XXYY. Trebuie remarcat însă că aproximativ 10% dintre bărbații

normali mai înalţi de 2 m au un cromozom Y suplimentar.

Anomaliile gonozomale şi autozomale ating concentraţii mari printre indivizii handicapaţi mintal.

Astfel, 1:232 dintre femeile înapoiate mintal au un cromozom X în plus (sindromul triplu-X), de 7,7 ori mai mult decît în seriile de nou-născuţi fete studiate de Barr şi col. (1969). În alte serii de femei înapoiate mintal incidenţa a fost însă semnificativ mai mică. În spitalele de psihiatrie frecvenţa aceloraşi femei este de 5 ori mai mare decît cea observată în serii neselecţionate.

Bărbaţii cromatin-pozitivi, cu sindrom Klinefelter, constituie 1% din totalul înapoiaţilor mintal internaţi în institute speciale. S-a remarcat că frecvenţa lor este invers proporţională cu severitatea deficitului mintal. Cel mai mare procent este întîlnit printre înapoiaţii mintal cu un coeficient de inteligenţă mai mare de 50, iar cel mai mic printre înapoiaţii mintal cu un coeficient de inteligenţă redus.

Frecvenţa aceluiaşi sindrom ajunge la 0,6% printre bolnavii cu tulburări psihice majore.

Se pare însă că datele de mai sus trebuie corectate. Cercetările recente sugerează că bolnavii cu aberaţii gonozomale reprezintă mai puţin de 1% din totalul bolnavilor instituţionalizaţi.

În instituţiile rezervate indivizilor handicapaţi mintal se găseşte un procent relativ important de bolnavi cu aberaţii autozomale.

10% dintre toţi bolnavii au trizomie 21. Celelalte aberaţii autozomale reprezintă doar 1—2% din totalul anomaliilor descoperite. Marea frecvenţă a trizomiei 21 se datoreşte faptului că purtătorii acestei trizomii au o medie de viaţă superioară purtătorilor celorlalte anomalii autozomale: cea mai mare parte a copiilor cu anomalii autozomale dispar în cursul primilor trei ani de viaţă.

SINDROAMELE GONOZOMALE

Anomaliile numerice ale gonozomilor antrenează tulburări mai mult sau mai puţin importante ale diferenţierii sexuale.

SINDROMUL KLINEFELTER

Este un sindrom binecunoscut şi sub raport citogenetic şi sub raport clinic.

Majoritatea bolnavilor (80%) au un cariotip 47,XXY. 20% au un mozaic, în care una dintre linii este 47,XXY. Iată mozaicurile cele mai frecvente:

46,XY/47,XXY;
46,XX/47,XXY;
45,X/46,XY/47,XXY;
46,XX/46,XY/47,XXY.

Prezenţa unui X în plus nu antrenează dismorfii importante. Pe primul plan stau leziunile gonadale: atrofie testiculară cu azoospermie. Leziunile apar în timp şi se agravează în jurul pubertăţii. La pubertate se adaugă frecvent o ginecomastie adevărată. Organele genitale externe sînt normal dezvoltate. Sterilitatea este, practic, constantă. Spermatogeneza completă are un caracter excepţional. Puţinii bărbaţi fertili cunoscuţi au însă un mozaic 46,XY/47,XXY.

Fenotipul este normal. Înălţimea bolnavilor este variabilă şi nu constituie un semn de diagnostic.

Cei mai mulţi dintre bolnavi au un coeficient de inteligenţă normal. De aceea nu rareori sindromul Klinefelter este descoperit întîmplător în cadrul investigaţiilor de rutină ale cuplurilor sterile.

SINDROMUL 48,XXYY

Copiii cu doi cromozomi X şi doi cromozomi Y, cunoscuţi uneori şi sub numele de „dublu masculi", apar extrem de rar: 4/100 000 de nou-născuţi. Prezenţa unui X suplimentar antrenează tulburări similare celor întîlnite în sindromul Klinefelter: leziuni gonadale caracteristice, azoospermie, ginecomastie. Y-ul în plus aduce elemente observate frecvent în sindromul YY — înălţime mare şi comportament agresiv. Înapoierea mintală este importantă. De aceea cei mai mulţi dintre purtătorii acestui cariotip sînt descoperiţi în institute speciale pentru delincvenţi handicapaţi mintal.

SINDROMUL YY

Acest sindrom constituie una dintre cele mai dezbătute teme ale citogeneticii umane. Istoria lui a început în 1963 cînd o echipă de citogeneticieni englezi, studiind frecvenţa

bărbaților cromatin-pozitivi printre delincvenții violenți și înapoiați mintal, au descoperit un procent mai mare decît cel așteptat teoretic de indivizi 48,XXYY. Cercetările au continuat și se părea că într-adevăr există o corelație între prezența unui Y suplimentar și comportamentul antisocial. Dar pe măsură ce numărul de date a crescut a devenit mereu mai evident că imensa majoritate a bărbaților YY au un comportament normal.

Bărbații YY au puține particularități. Astfel, s-a remarcat că 10% dintre bărbații foarte înalți — 2 m sau mai mult — au un cromozom Y suplimentar. Fenotipul este normal. S-au raportat din cînd în cînd și bărbați YY cu diverse malformații, dar ele nu sînt specifice.

Gonadele prezintă deseori leziuni importante care pot antrena o oprire a spermatogenezei. Organele genitale externe sînt normale.

Acești bărbați ar trebui să aibă, dacă sînt fertili, un număr mai mare de copii citogenetic anormali — cu 47,XYY și 47,XXY — decît tații normali. Or, cu puține excepții, ei au numai băieți normali. Explicația este simplă: Y-ul supranumerar este eliminat în timpul meiozei.

SINDROMUL TURNER

Din punct de vedere citogenetic acest sindrom se distinge printr-o considerabilă diversitate de anomalii gonozomale. Marea majoritate a bolnavelor au un singur cromozom de sex X (45,X) (fig. 82). 10% au un mozaic 45,X/46,XX. S-au descris și bolnave cu mozaicuri complexe:

45,X/46,XX/47,XXX;
45,X/47,XXX;

precum și femei cu deleții de brațe scurte ale unui cromozom X, cu un cromozom X în formă de inel sau cu un izocromozom pentru brațele lungi sau scurte ale unui cromozom X.

Un singur X are consecințe multiple. El poate iniția dezvoltarea gonadelor, dar nu le poate menține. Embrionii de trei luni au ovare normale. După aceea încep să involueze și locul lor este luat de bandelete fibroase. Foarte rar gonadele persistă pînă la pubertate, și în mod cu totul excepțional mai



Fig. 82. Cariotip 45,X.

mult timp. În întreaga literatură genetică s-au raportat doar cîteva femei 45,X fertile. Oricum, chiar și la aceste excepții ciclurile menstruale dispar.

În absența gonadelor organele genitale sînt hipoplazice, pubertatea nu apare iar caracterele sexuale secundare sînt slab dezvoltate.

Fetele cu sindrom Turner prezintă malformații particulare: înălțime mică, depășesc rareori 145 cm, o față bătrînicioasă și, ceea ce este caracteristic, un gît scurt și palmat care amintește de gîtul de sfinx. Se adaugă numeroase alte anomalii scheletice. Inteligența este aproape întotdeauna normală. Chiar cînd apare un deficit mintal el este moderat (fig. 83).

SINDROMUL 47,XXX

Un cromozom X suplimentar are consecințe diverse. Nu de puține ori aceste femei sînt descoperite întîmplător în cadrul cercetărilor de rutină. Multe au fost descoperite însă





Fig. 83. Bolnavă cu sindrom Turner.

în școlile ajutătoare, în institutele speciale pentru handicapați mintal sau în clinicile de psihiatrie.

Malformațiile sînt rare și necaracteristice. Sînt însă relativ frecvente tulburările ovariene: pubertate tardivă, amenoree secundară.

S-au descris cîteva zeci de femei cu 4 sau cu 5 cromozomi de sex X-48,XXXX și 49,XXXXX. Toate au distinctiv o înapoiere mintală profundă.

INTERSEXUALITĂȚILE

Sub acest nume au fost incluse toate anomaliile organelor genitale externe și/sau interne. În funcție de natura gonadelor, se deosebesc trei forme:

— hermafroditismul adevărat, cea mai rară formă de intersexualitate umană, se distinge prin existența ambelor tipuri de țesuturi gonadale — testicul și ovar;

— pseudohermafroditismul masculin — cuprinde toate intersexualitățile cu gonade masculine (testicule);

— pseudohermafroditismul feminin — se distinge prin prezența ovarelor.

a) *Pseudohermafroditismul masculin.* Este una dintre cele mai frecvente tulburări întîlnite în patologia umană. Dacă se includ toate anomaliile organelor genitale externe, atunci aproximativ 1% dintre nou-născuți au pseudohermafroditism. De foarte multe ori este vorba despre malformații minore, a căror includere printre intersexualități are un caracter oarecum arbitrar.

S-au propus numeroase clasificări ale acestei forme de intersexualitate. Conform uneia dintre cele mai actuale, malformațiile organelor genitale pot fi condiționate de o diferențiere defectuoasă a gonadelor, de o deficiență funcțională a gonadelor sau de o insensibilitate periferică la androgeni (Kutten și Mauvais-Jarvis, 1977).

Diferențierea defectuoasă a gonadelor este deseori consecința unei aberații cromozomale. Iată cîteva dintre anomaliile cromozomale întîlnite în pseudohermafroditismul masculin:

45,X/46,XY;
45,X/46,XX/46,XY;
45,X/46,XY/47,XYY;
46,XY/46,XX/47,XXY;
45,X/46,XY/47,XXY/46,XX.

Destul de des pseudohermafroditismul masculin este rezultatul unei anomalii structurale a cromozomului Y: deleții ale brațelor lungi, izocromozom Y, dicentric Y.

Marea majoritate a cazurilor au însă cariotip normal: probabil sînt consecința unei erori metabolice.

Pseudohermafroditismul masculin se distinge printr-o remarcabilă diversitate fenotipică. Este suficient să reamintim că la o extremă se pot situa femeile aparent normale cu organe genitale externe feminine, dar cu testicule funcționale iar la cealaltă extremă bărbații cu organe genitale externe normale, dar cu uter, trompe și evident testicule.

b) *Hermafroditismul adevărat.* Deși numărul observațiilor raportate în literatura genetică nu depășește cîteva sute,

Overzier (1963) aprecia că 2—3‰ dintre nou-născuţi ar fi hermafrodiţi adevăraţi. Nu ar fi exclus ca frecvenţa printre embrioni să fie considerabil mai mare. După datele lui Lee (1971), incidenţa ar fi de 1,08%. Dar cea mai mare parte sînt eliminaţi în cursul evoluţiei intrauterine.

50% dintre hermafrodiţii adevăraţi au cariotip 46,XX. Urmează în ordinea frecvenţei:

46,XY (20%);
45,X/46,XY (20%);
46,XX/46,XY;
46,XX/47,XXY;
46,XX/47,XXY/49,XXYYY.

Cariotipul 46,XX, atît de frecvent întîlnit, nu poate explica prezenţa testiculelor. De aceea s-au sugerat mai multe ipoteze:

— un mozaic 46,XX/46,XY — linia XY nefiind detectată.

— translocaţia cromozomului Y — a genelor masculinizante, de fapt — pe alt cromozom. În mai multe cazuri Y-ul a fost găsit, fie prin mijloace citogenetice (cercetări prin fluorescenţă), fie indirect, imunologic, prin detectarea antigenului Y.

Mozaicul 46,XX/46,XY are altă explicaţie:

— dubla fertilizare a unui gamet feminin cu două nuclee de către doi spermatozoizi. Fenomenul pare să nu fie excepţional de rar. Dovadă că cel puţin 20 de hermafrodiţi adevăraţi cu acest cariotip au o dublă populaţie celulară — genetic diferită.

— nu este imposibilă nici fuziunea precoce a doi zigoţi citogenetic diferiţi, unul XX, altul XY.

În ultimele două circumstanţe hermafroditul este o himeră — un individ alcătuit din celule genetic diferite.

Diagnosticul de hermafroditism adevărat îl aduce numai examenul histologic al gonadelor.

c) *Pseudohermafroditismul feminin.* Cea mai mare parte a cazurilor sînt rezultatul unei erori în metabolismul hormonilor glandei corticosuprarenale. Ca atare, cariotipul lor este 46,XX. În mod cu totul excepţional, s-au descris şi copii cu pseudohermafroditism feminin şi anomalii cromozomale.

ANOMALIILE AUTOZOMALE

Autozomii au un mare număr de gene, direct proporţional cu dimensiunile lor. Ca atare, orice modificare numerică are consecinţe severe. Monozomiile sînt letale. Excepţiile sînt rare. S-au descoperit puţini copii cu mozaicuri constituite dintr-o linie normală şi una monozomică pentru cromozomii din grupele mici F şi G şi cu malformaţii grave.

Cîteva trizomii sînt compatibile cu evoluţia intrauterină: 8,13, 18,21 şi 22. Şi în aceste cazuri există anomalii mai mult sau mai puţin grave: grave în trizomiile 13,18 şi 22 şi mai puţin grave în trizomiile 8 şi 21.

Datorită metodelor de bandare s-au descoperit trizomii şi monozomii parţiale pentru aproape toţi cromozomii. Ele au demonstrat că numeroase sindroame malformative sînt în realitate expresia unei mici anomalii structurale. Copiii cu asemenea anomalii provin uneori din părinţi cu translocaţii echilibrate.

SINDROMUL DE TRIZOMIE 21 (SINDROMUL DOWN)

Trizomia 21 este una dintre cele mai frecvente anomalii cromozomale întîlnite în patologia umană: 1/600—1/700 de nou-născuţi.

În 1866, Langdon Down a izolat din grupa deficienţelor mintale o entitate bine definită pe care a numit-o idioţenie mongoloidă (mongolism). Termenul i-a fost sugerat de asemănarea superficială existentă între copiii cu acest sindrom şi populaţiile asiatice. Termenul este eronat, deoarece sindromul apare în toate populaţiile lumii şi deoarece copiii cu acest sindrom seamănă unul cu altul indiferent de populaţia căreia îi aparţin. De aceea numele de mongolism tinde să fie părăsit şi înlocuit de cel de sindrom Down sau de trizomie 21.

Originea sindromului a fost descoperită în 1959 de Lejeune şi colegii săi. Cromozomul 21 suplimentar poate fi liber sau poate fi translocat de pe alt cromozom. Iată frecvenţa variantelor citogenetice (fig. 84):

47,XX(XY), +21;	95%
Mozaic 46/47;	1—2%
Translocaţii.	3% (50%=D/S; 50%=S/G)

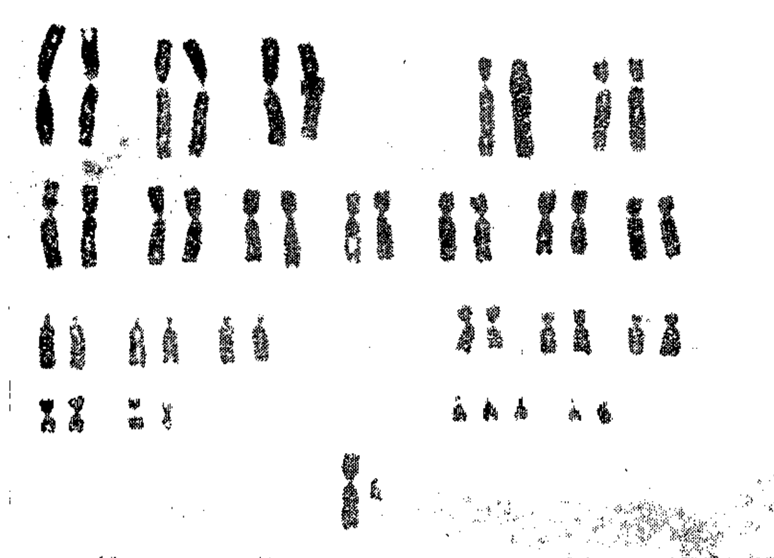


Fig. 81. Trizomie 21.

Mozaicurile sînt întîlnite îndeosebi printre cazurile atipice.

Cromozomul 21 poate fi translocat pe alt cromozom — aproape întotdeauna pe un cromozom D sau pe un cromozom G. Copiii cu translocații au numai 46 de cromozomi — aparent. În translocațiile D/G lipsește un cromozom din grupa D. Apare însă un cromozom suplimentar, submetacentric, similar unui cromozom din grupa C. În translocațiile G/G lipsește un cromozom G și apare un cromozom metacentric în plus.

Translocațiile pot fi sporadice sau pot fi moștenite. În prima eventualitate accidentul a survenit fie în mitoză, în cursul dezvoltării gonadale timpurii a unuia dintre părinți, fie în meioză, în spermatogeneză sau în oogeneză, fie după concepție într-un zigot trizomic.

Jumătate dintre translocațiile D/G sînt moștenite de la unul dintre părinți, de obicei de la mamă. Este interesant că translocațiile D/G au un caracter preferențial: 90% dintre ele implică un cromozom 21 și un cromozom 14; 10% implică un cromozom 21 și un cromozom 15 și în mod excepțional survin translocații 13/21.

Dintre translocațiile G/G numai 6% sînt moștenite, spre deosebire de translocațiile D/G moștenite în 50% dintre cazuri.

Există două tipuri de translocații G/G: translocații 21/22 și translocații 21/21 — aceste translocații nu pot fi deosebite de izocromozomii pentru brațele lungi ale cromozomului 21.

Se pare că translocațiile sporadice G/G sînt aproape întotdeauna 21/21.

Mozaicul constituit din două sau trei linii, dintre care una cu trizomie 21, a fost observat la 2% dintre copiii cu sindrom Down tipic și mult mai des printre copiii cu sindrom Down atipic. Același mozaic a fost observat uneori printre părinții aparent normali ai copiilor cu trizomie 21.

Investigația citogenetică aduce astfel diagnosticul de certitudine și, ceea ce este și mai important, ne permite să stabilim riscul recurenței, aspect despre care vom vorbi în capitolul consacrat profilaxiei tulburărilor genetice.

O concluzie mai puțin așteptată a adus-o studiul translocațiilor familiale. Aceste cercetări au demonstrat că sindromul apare numai în cazul în care este triplicată doar regiunea distală a brațelor lungi, mai exact cînd este triplicată banda q22,1. Copiii cu o trizomie pentru segmentul proximal, adică pentru regiunea apropiată de centromer, banda q21, sînt normali.

Sub raport clinic, sindromul de trizomie 21 se distinge printr-un ansamblu de malformații atît de sugestive, încît diagnosticul poate fi pus cu certitudine chiar și în absența investigației citogenetice. Există, firește, și excepții.

Pe primul plan stă înapoierea mintală. Coeficientul de inteligență scade paralel cu vîrsta copilului. În general, 30% dintre copiii cu trizomie 21 sînt profund înapoiați mintal; 45% sînt sever handicapați mintal; 20% sînt moderat înapoiați mintal și numai 5% au un deficit moderat.

Bărbații cu trizomie 21 sînt constant sterili. Femeile par să fie însă frecvent fertile.

În trizomia 21 apar numeroase tulburări biochimice. Cele mai interesante, sub raport teoretic, sînt modificările cantitative ale activității enzimatice. În aberațiile autozomale numerice, monozomii și trizomii, activitatea enzimelor controlate de gene situate pe cromozomul absent sau triplicat trebuie să scadă sau să crească. Dacă activitatea unei enzime este 1, la indivizii citogenetic normali, atunci în monozomii trebuie să fie 0,5 iar în trizomii 1,5. Într-adevăr, în trizomia 21 acti-

vitatea superoxid-dismutazei este 1,5 (Prişcu şi Sichitiu, 1974). Ulterior s-a demonstrat că gena care controlează această enzimă este situată pe banda q22,1.

Media de viaţă a acestor trizomici a fost foarte mică pînă la descoperirea antibioticelor. După aceea a crescut considerabil. Rămîne condiţionată şi acum de prezenţa malformaţiilor cardiace. Evident, media de viaţă variază de la o regiune geografică la alta. În condiţii social-economice bune ajunge la 27 de ani. S-au raportat şi bolnavi care au depăşit vîrsta de 50 de ani.

SINDROMUL DE TRIZOMIE 13

Sindromul recunoscut ca entitate specifică în 1960 de Patau şi col. a fost descris încă din 1657 de către oftalmologul Bartholin.

Se distinge printr-o serie de malformaţii grave, îndeosebi ale feţei (buză de iepure şi despicătură palatină, microftalmie), anomalii ale extremităţilor (polidactilie), malformaţii cardiace. Cea mai mare parte a copiilor afectaţi dispar în primele trei luni de viaţă postnatală (fig. 85).

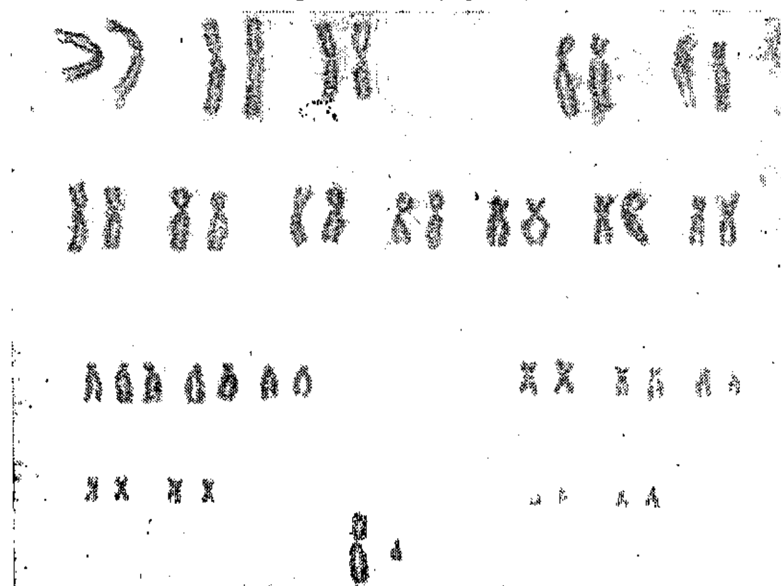


Fig. 85. Trizomia 13.

ANOMALIILE CROMOZOMALE ÎN TUMORILE MALIGNE

Se presupune că marea majoritate a tumorilor maligne sînt condiţionate de factori mezologici. Cu toate acestea, este aproape sigur că modificările genetice au un rol important fie în apariţia, fie în evoluţia cancerului. Supoziţia este sprijinită de mai multe categorii de fapte.

1. Tumorile maligne induse de substanţe cancerigene sau de virusuri prezintă anomalii cromozomale distincte. De pildă, sarcoamele induse la şobolan de dimetilbenzantracen se disting prin prezenţa unui mare număr de celule trizomice pentru cel mai lung dintre telocentrici iar sarcoamele induse de virusul Rous, prin prezenţa unor trizomii caracteristice. Tumorile virale diferă astfel citogenetic de cele induse chimic. Mai mult, tumorile induse de hidrocarburi policiclice (metilcolantren şi benzpiren) prezintă un tablou citogenetic similar cu cel observat în sarcoamele induse cu dimetilbenzantracen. Aceste observaţii au sugerat concluzia că un segment din cromozomul A-2 al şobolanului ar favoriza tumorigeneza.

2. Un număr limitat de proliferări maligne umane au modificări cromozomale caracteristice. Cel mai demonstrativ exemplu este leucemia mieloidă cronică. În această formă de leucemie, 90% dintre bolnavi au o translocaţie: o parte din braţele lungi ale cromozomului 22 sînt transferate pe braţele lungi ale cromozomului 9 sau, mai rar, pe alţi cromozomi — 2, 3, 4, 6, 11, 13, 16, 17, 19, 21, 22. Numai rareori fragmentul rupt nu a fost găsit pe nici un alt cromozom şi se presupune că s-a pierdut. Pînă la introducerea tehnicilor de bandare se credea că leucemia mieloidă cronică se caracterizează printr-o simplă deleţie a braţelor lungi ale unui cromozom G, numit cromozom Ph_1 — Philadelphia.

Translocaţia este prezentă în măduva osoasă, în granulocite, eritrocite şi megacariocite, atît în faza acută, cît şi în cea cronică. În perioada de transformare blastică se adaugă alte anomalii cromozomale, care nu par să fie întîmplătoare: un nou Ph_1, un cromozom 8 şi un izocromozom pentru braţele lungi ale cromozomului 17, care ia locul cromozomului 17 normal. Acest complex de aberaţii a fost numit de Levan şi col. (1977) ruta majoră. Numai la 12% dintre bolnavi apar anomalii cromozomale greu de sistematizat.

Există unele diferenţe clinice între bolnavii Ph_1 pozitiv şi Ph_1 negativ. Adulţii care nu au acest cromozom sînt ceva

mai vîrstnici și au o perioadă de supraviețuire mai mică decît bolnavii care au acest cromozom. La copiii Ph_1 negativ evoluția bolii este, de asemenea, mai severă decît la copiii Ph_1 pozitiv.

Anomalia cromozomală este cîștigată. Cu toate acestea, se presupune că în aproximativ 10—15% dintre cazuri, leucemia mieloidă cronică ar putea fi condiționată de o mutație dominantă autozomală cu penetranță mare și expresivitate variabilă. Purtătorii acestei mutații pot face și alte forme de leucemie.

2% dintre bolnavii cu policitemie vera au o deleție a brațelor lungi ale cromozomului 20 (20q-). Prezența anomaliei cromozomale nu are nici o semnificație clinică.

Alte cîteva proliferări maligne, ca leucemia eozinofilă, leucemia limfocitară, carcinomul de prostată, au în comun un izocromozom pentru brațele lungi ale cromozomului 17.

Dintre celelalte tumori maligne doar în cîteva s-au găsit markeri: în majoritatea cazurilor de limfom Burkitt s-a descoperit un cromozom 14 cu o bandă suplimentară, în realitate însă este o translocație 8/14. Translocația a fost găsită în populații diferite și printre africani și printre negrii din Statele Unite.

În meningioame s-a descoperit un cromozom 22 cu deleții. În aceeași tumoră se pierde în cursul evoluției, caracteristic, un cromozom 8.

În celelalte tumori cariotipul este normal sau prezintă anomalii greu de sistematizat. Cu toate acestea, se pare că și în tumorile citogenetic haotice ar exista o implicare cromozomală preferențială.

3. Se cunosc cîteva boli ereditare caracterizate prin numeroase remanieri cromozomale și prin apariția frecventă a cancerului.

Sindromul Bloom, condiționat de o mutație recesivă în formă homozigotă, se distinge prin hipotrofie staturală și prin telangiectazii ale feței sensibile la soare. În 0,5—11% dintre limfocitele sau fibroblaștii acestor bolnavi apar configurații cromozomale particulare: cvadriradiali, constituiți în general din doi cromozomi omologi care schimbă între ei regiuni cromatidiene. Apar, de asemenea, celule cu cromozomi dicentrici și acentrici, precum și celule cu fragmente cromozomale. Aceleași remanieri cromozomale sînt prezente într-o frecvență mai mică și în celulele heterozigoților.

Pentru a se explica marea frecvență a cancerului la bolnavii cu acest sindrom s-a presupus că apar clone celulare, fiecare avînd o anumită remaniere cromozomală.

Anemia Fanconi, condiționată de o mutație recesivă în formă homozigotă, se distinge prin asocierea hipoplaziei măduvei osoase cu anomalii cardiace, renale și osoase. Este aproape sigur că dacă bolnavii trăiesc suficient de mult timp fac leucemie. Cancerul apare mai des decît în restul populației și printre rudele copiilor afectați. Ca și în sindromul precedent, în numeroase celule apar rearanjamente și rupturi cromozomale.

Cea mai interesantă tulburare este xeroderma pigmentosum, condiționată de o mutație recesivă în formă homozigotă. S-a descris și o variantă relativ benignă condiționată de o mutație dominantă autozomală.

Purtătorii mutației par la naștere normali. După expunerea la raze ultraviolete apar modificări cutanate progresive și în primii ani de viață și cancere ale pielii.

Spre deosebire de bolile anterioare, remanierile cromozomale sînt absente. Se formează însă clone pseudodiploide: celule cu 46 de cromozomi, dar cu distribuție anormală. Frecvența acestor clone este relativ mică.

La bolnavii cu xeroderma pigmentosum expuși la soare apar numeroase leziuni ale ADN-ului — dimeri pirimidinici; în mod normal, leziunile sînt corectate la întuneric printr-un mecanism special de reparație (dimerii pirimidinici se formează în aceleași condiții și la persoanele normale). Reparația implică secționarea filamentului de ADN în vecinătatea dimerului (secționare realizată de o endonuclează specifică, excizia dimerului), umplerea golului cu baze noi, sub acțiunea ADN-polimerazei și apoi unirea filamentului deschis, ultima etapă reclamînd participarea ligazelor. În xeroderma pigmentosum există însă un defect de reparație. Ca atare, are loc o acumulare de dimeri pirimidinici. Probabil, aceștia favorizează erorile de duplicație și secundar remanierile cromozomale, mai exact apariția clonelor pseudodiploide.

Hibridizările experimentale au demonstrat că există mai multe tipuri de xeroderma pigmentosum, deoarece celulele binucleate formate își complementează reciproc defectul.

Tulburarea apare rar, cu excepția unor populații arabe din nordul Africii. În aceste populații 14% dintre toate bolile maligne ale copiilor sînt cancere ale pielii la bolnavi cu xeroderma pigmentosum.

4. În sindroamele cromozomale leucemia apare la fel de frecvent ca în restul populației. Cu excepția sindromului Down; copiii cu trizomie 21 au un risc de 1% de a face leucemie acută (Schimke, 1978).

Interpretarea datelor prezentate mai înainte este dificilă. Este sigur că anomaliile cromozomale nu sînt cauza directă a malignizării. În condiții experimentale s-a observat că unele virusuri se fixează preferențial pe anumiți cromozomi: adenovirusul 12 pe cromozomul 1, virusul herpetic pe cromozomul 9. Dar nu se știe dacă există sau nu o relație directă între fixarea virusurilor pe anumiți cromozomi și apariția sau evoluția cancerului.

INDICAȚIILE INVESTIGAȚIILOR CITOGENETICE

Este evident că nu toate sindroamele trebuie investigate citogenetic. Tulburările condiționate monogenic au cariotip normal. Chiar dacă uneori apar anomalii cromozomale, ele au un caracter fortuit. S-au raportat din cînd în cînd, de pildă, femei cu sindromul testiculului feminizant și anomalii gonozomale: 47, XXY; 45, X/46, XY sau 47, XYY. Este cert că acest sindrom este condiționat de o mutație genică. De asemenea, sînt inutile investigațiile citogenetice în malformațiile congenitale comune sau în înapoierile mintale „pure", deseori ultimele fiind rezultatul unei erori de metabolism.

Cercetarea citogenetică este indicată într-un număr bine definit de circumstanțe:

— copii cu malformații multiple și severe, dacă malformațiile nu se încadrează într-un sindrom cu transmitere mendeliană — deci într-un sindrom monogenic.

Investigația se impune chiar în cazurile în care diagnosticul clinic pare cert, ca în sindromul Down. Există copii cu malformații sugestive pentru acest sindrom care sînt însă citogenetic normali — ei se încadrează în alte sindroame. Dar un cariotip normal în sîngele periferic nu exclude diagnosticul de sindrom Down. În asemenea circumstanțe se impune o cultură de fibroblaști.

Odată cu copilul anormal se studiază și cariotipul părinților. Numai prin studiul lor se poate stabili, deseori cu certitudine, diagnosticul citogenetic al copilului malformat. Unul dintre părinți are, să presupunem, o translocație echilibrată:

între brațele scurte ale unui cromozom 6 și brațele lungi ale unui cromozom 19. Dacă copilul lui are un cromozom 19 anormal de lung și doi cromozomi 6 normali este sigur că el are o trizomie parțială 6.

Prin cercetarea citogenetică a părinților se stabilește și riscul recurenței.

— copiii cu malformații multiple, dar discrete. Șansa de a descoperi o anomalie cromozomală crește dacă acești copii au microcefalie și o întîrziere de creștere intrauterină și postnatală.

— copiii intersexuați. Nu de puține ori anomaliile genitale sînt atît de importante, încît nu se poate stabili sexul social. Determinarea cromozomilor de sex va fi dublată de cercetări hormonale pentru a se stabili dacă copilul nu are un sindrom adreno-genital. Stabilirea sexului social depinde mai puțin de natura cromozomilor de sex și mai mult de intensitatea malformațiilor și implicit de posibilitățile chirurgiei reparatorii.

— fetele cu talie mică, indiferent dacă au sau nu malformații somatice. Uneori aceste fete au un mozaic 45, X/46, XX chiar dacă nu prezintă nici una dintre malformațiile caracteristice sindromului Turner.

— femeile cu amenoree primară. Este o indicație majoră, deoarece 25% dintre ele au o anomalie cromozomală: fie 46, XY, fie un mozaic gonozomal.

— cuplurile cu avorturi spontane multiple și îndeosebi cuplurile care au sau care au avut un copil cu malformații multiple, decedat fără un diagnostic de certitudine. Cel puțin 4% dintre aceste cupluri au o anomalie cromozomală, de obicei o translocație echilibrată.

— persoanele iradiate terapeutic cu doze foarte mari — bolnavii cu neoplazii. Aceste persoane au un risc considerabil mai mare decît cele neiradiate de a avea un copil cu o tulburare condiționată de o mutație genică sau de o anomalie cromozomală.

— diagnosticul unor neoplazii, de pildă cromozomul Ph_1 în leucemia mieloidă cronică.

— diagnosticul de paternitate — cercetarea lungimii cromozomului Y — poate exclude posibilitatea ca un bărbat cu un cromozom Y mic să fie tatăl unui băiat cu un cromozom Y mare. Ca în toate metodele de cercetare a paternității, in-

vestigarea citogenetică poate exclude, dar nu poate confirma paternitatea.

În majoritatea investigaţiilor citogenetice moderne se folosesc tehnicile de bandare.

STANDARDIZAREA NOMENCLATURII ÎN CITOGENETICA UMANĂ

Apariţia şi apoi dezvoltarea rapidă a citogeneticii umane au impus adoptarea unei nomenclaturi unificate, singura cale de a face posibilă comunicarea între citogeneticieni sau între citogeneticieni medici sau biologi. Mai mult, standardizarea nomenclaturii este indispensabilă stabilirii unui registru citogenetic internaţional.

Bazele actualului sistem au fost puse în urmă cu aproape două decenii în cadrul conferinţei organizate la Denver (1960). El a fost ameliorat apoi de mai multe ori (Londra, 1963, Chicago, 1966 şi Paris, 1971). Nomenclatura actuală a fost recomandată de conferinţa de la Paris, după descoperirea tehnicilor de bandare cromozomală.

Tabelul 39

Simbolurile nomenclaturii utilizate în citogenetică

A-G	grupele de cromozomi
1—22	numărul perechii de autozomi
X—Y	cromozomi de sex
diagonala /	separă liniile celulare cromozomal diferite
semnul + şi semnul —	plasat înaintea unui simbol înseamnă prezenţa sau absenţa unui cromozom întreg; plasat după simbol înseamnă creşterea sau diminuarea lungimii unui braţ sau structuri
ace	acentric
cen	centromer
dic	dicentric
del	deleţie
dup	duplicaţie
i	izocromozom
inv	inversie
inv. ins.	inserţie inversă
p	braţul scurt al cromozomului
q	braţul lung al cromozomului
r	(ring) cromozom în formă de inel
rcp	translocaţie reciprocă; poate fi folosit şi simbolul t, dar primul este mai precis
rob	translocaţie robertsoniană (fuziune centrică)
s	sateliţi
ter	terminal sau capăt; pter = extremitatea braţelor scurte; qter = extremitatea braţelor lungi
:	rupere ca în deleţiile terminale
: :	rupere şi reunire
→	de la—la

Anomalii numerice.

Pentru descrierea unei anomalii numerice se menţionează în ordine numărul total de cromozomi, virgulă, cromozomi de sex. De pildă:

45, X	45 de cromozomi, un singur cromozom X
46, XX	46 de cromozomi, doi cromozomi de sex XY
47, XXX	47 de cromozomi, trei cromozomi de sex X

În ipoteza în care este prezent un cromozom suplimentar se scrie numărul total de cromozomi, virgulă, cromozomi de sex, virgulă, semnul + grupa sau, cînd este posibil, numărul cromozomului în plus. Dacă lipseşte un cromozom semnul+ este înlocuit cu semnul minus:

47, XY, + 21	47 de cromozomi, cromozomi de sex XY, un cromozom 21 suplimentar (trizomie 21)
45, XY, — 21	45 de cromozomi, cromozomi de sex XY, un cromozom 21 absent (monozomie 21)

Anomalii structurale.

Simbolul rearanjamentelor cromozomale se plasează înaintea cromozomului (sau cromozomilor) implicaţi iar acesta se scrie între paranteze:

45,X, i (Xp)	45 de cromozomi, un cromozom X normal şi izocromozom pentru braţele scurte ale unui cromozom X
46, XY, r (21)	cariotip masculin cu 46 de cromozomi, inclusiv un cromozom în formă de inel
46, X, dic (Y)	46 de cromozomi, un cromozom X şi un cromozom dicentric Y

Nomenclatura benzilor cromozomale.

Fiecare cromozom este constituit din benzi succesive situate în regiuni bine definite, separate prin markeri specifici,

cum sînt extremitățile cromozomilor, centromerul sau anumite benzi.

Toți cromozomii sînt împărțiți în regiuni iar fiecare regiune include una sau mai multe benzi. Numărarea benzilor se face de la centromer în afară, către extremități.

Se pot folosi două sisteme de notație — unul scurt și unul amănunțit. În primul se notează doar tipul de remaniere și punctul sau punctele de ruptură. În cel de-al doilea se definește suplimentar structura benzilor cromozomale.

Cîteva exemple vor ilustra cele două tipuri de notație. Primul este sistemul scurt. Al doilea este sistemul amănunțit.

46, XY, del (3) (q26)
46, XY, del (3) (pter → q26:)
deleție a brațelor lungi ale cromozomului 3 distal de banda 26.

46, XY, del (2) (q22 q32)
46, XY, del (2) (pter → q22 : : q32 qter)
În brațele lungi ale cromozomului 2 a avut loc o dublă ruptură urmată după pierderea segmentului interstițial cuprins între benzile q22—q32 de reunirea capetelor libere.

46, XX, r (12) (p12 q23)
46, XX, r (12) (p12 → q23)
dublă ruptură în benzile p12 și q23 urmată de deleția segmentelor distale și reunirea capetelor rupte.

46, XY, inv (1) (p22 q41)
46, XY, inv (1) (pter → p22 : : q41 → p22 : : q41 → qter)
inversiune pericentrică în cromozomul 1; două puncte de ruptură, unul în banda 22 a brațelor scurte și altul în banda 41 a brațelor lungi urmate de rotirea cu 180° a segmentului cuprins între punctele de ruptură.

46, XY, inv (3) (p13 q25)
46, XY, inv (3) (pter → p25 : : p13 → p25 : : p13 qter).
consecutiv unei duble rupturi în benzile p13 și p25, segmentul cuprins între cele două puncte de ruptură s-a inversat.

46, XX, t (4; 10) (q31; q22)
46, XX, t (4; 10) (4pter → 4q31 : : 10q22 → 10qter; 10pter → 10q22 : : 4q31 → 4qter).
translocație reciprocă; o dublă ruptură a apărut în benzile 4q31 și 10q22. Segmentele distale au fost schimbate între cei doi cromozomi. În acest fel cromozomul 4 are benzile cuprinse între 10q22 și 10qter iar cromozomul 10 are benzile cuprinse între 4q31 și 4qter.

46, XY, t (13q 21q)
46, XY, t (13; 21) (13qter → cen → 21qter)
translocație robertsoniană; ruptura a avut loc la nivelul sau lîngă centromer. Noul cromozom este constituit din brațele lungi ale celor doi cromozomi; brațele scurte s-au pierdut.

IMUNOGENETICĂ

Capacitatea unui organism de a-și păstra integritatea în condiții mezologice variate depinde și de existența sistemului imun, sistem care trebuie să identifice elementele constitutive proprii de cele străine și care trebuie să ducă la eliminarea substanțelor care pot perturba homeostazia — răspuns imun.

Organismul are două mijloace majore de a-și păstra homeostazia imună: imunitatea celulară și imunitatea umorală.

Imunitatea celulară se referă la procesele locale determinate de molecule legate de celule. Cea de-a doua se referă la procesele imune determinate de producția de anticorpi și de grupul de substanțe cunoscute sub numele colectiv de complement. Cele două tipuri de imunitate nu sînt separate: între ele există o continuă interacțiune.

Primele forme de sistem imun au apărut în urmă cu aproximativ 400 de milioane de ani la vertebratele primitive. În cursul evoluției s-au format splina, timusul, țesutul limfoid, celulele plasmatice și imunoglobulinele.

După Schlegel și Miller (1975), descifrarea răspunsului imun implică cercetarea a patru categorii de factori:

— imunoglobuline produse de limfocitele B;

— funcția limfocitelor T implicate în imunitatea mediată celular;

— funcția fagocitelor și a celulelor sangvine care au capacitatea de a distruge bacteriile și diferite particule solide;

— funcția mediatorilor răspunsului imun.

LIMFOCITELE B

Constituie o subpopulație limfocitară diferențiată la păsări sub influența unui organ special, bursa lui Fabricius, organ limfoepitelial situat în regiunea terminală a intestinului. Nu

este cunoscut echivalentul bursei lui Fabricius la mamifere.

Limfocitele B produc imunoglobuline (anticorpi). Fiecare limfocit B este o celulă specializată să sintetizeze un singur fel de anticorpi sau un număr foarte mic. Activate de un antigen, limfocitele B proliferează și formează o clonă de celule. După un număr de diviziuni, o parte dintre limfocite încep să producă anticorpi: devin celule plasmatice. Cealaltă parte, care nu produce anticorpi, grupa celulelor cu memorie, va fi activată în ipoteza în care în organism va pătrunde în viitor același antigen.

LIMFOCITELE T

Sînt celule specializate produse în măduva osoasă, diferențiate ca atare sub acțiunea unor hormoni timici.

Limfocitele T formează o grupă heterogenă constituită din subpopulații celulare cu funcții diferite. Ele nu produc anticorpi, ci substanțe particulare — limfochine — care modelează o serie de procese imune inflamatorii.

Limfocitele T au un rol major în imunitatea mediată celular: elimină direct, fără intervenția anticorpilor, numeroase substanțe străine, bacteriene, virale sau tisulare.

Cooperează cu limfocitele B, favorizînd sau inhibînd sinteza anticorpilor: primele se numesc limfocite *helper* (ajutătoare); celelalte se numesc limfocite supresive.

Au pe suprafața membranei mai mulți antigeni specifici — theta, TL, GIX, Ly1, Ly2, Ly3; acești antigeni lipsesc la limfocitele B.

Un exces de celule „helper“ sau un deficit de celule supresive explică stările de hiperimunitate, iar un deficit de celule „helper“ sau o hiperfuncție a celulelor supresive explică deficiențele imunologice — o parte dintre ele, evident.

STRUCTURA IMUNOGLOBULINELOR

Spuneam mai înainte că fiecare limfocit B produce un singur fel de anticorpi. Aceasta înseamnă că organismul sintetizează un număr uriaș de tipuri de anticorpi, corespunzător numărului de antigeni existent în natură. Pornind de la

această premisă se poate admite că fiecare tip de anticorpi are particularităţi structurale. Confirmarea ipotezei o aduce numai determinarea structurii primare a anticorpilor.

Anticorpii sînt proteine solubile asociate cu fracţiunea gammaglobulinică serică, ce au capacitatea de a se lega specific cu alte molecule. Deoarece sînt implicaţi în răspunsul imun, se mai numesc şi imunoglobuline.

Toate imunoglobulinele sînt formate din patru lanţuri: două mai lungi numite lanţuri grele şi două mai scurte numite lanţuri uşoare. Primele sînt constituite din aproximativ 446 de aminoacizi; ultimele sînt formate din 214 aminoacizi. Punţi disulfite unesc lanţurile grele şi lanţurile grele cu lanţurile uşoare.

Determinarea secvenţei aminoacizilor a scos în relief un fapt cu totul remarcabil: aproximativ jumătate din fiecare lanţ uşor şi aproximativ trei sferturi din fiecare lanţ greu, în fiecare caz extremitatea COOH, păstrează practic aceeaşi structură în toate imunoglobulinele. De aceea aceste regiuni au fost numite regiuni constante (C). Extremitatea amino (NH_2) a fiecărui lanţ greu şi a fiecărui lanţ uşor diferă de la o clasă de antigeni la alta printr-un număr oarecare de substituţii. Aceste regiuni au primit numele de regiuni variabile (V). În anumite zone ale acestei regiuni apare o variabilitate accentuată; de aceea au şi fost numite regiuni hipervariabile; ele ocupă poziţiile 26—32, 48—55 şi 90—95 în lanţurile uşoare şi 31—37, 51—68, 84—91 şi 101—110 în lanţurile grele (fig. 86).

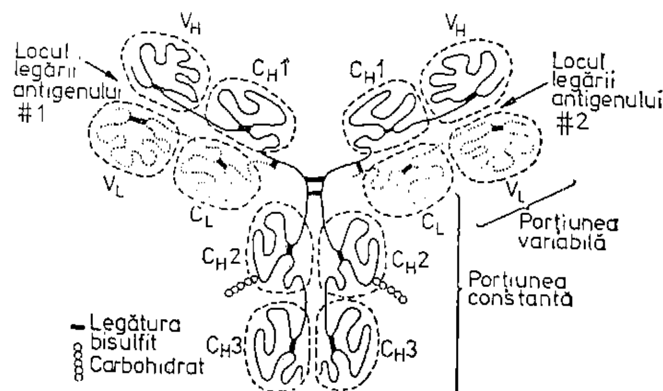


Fig. 86. Model al structurii moleculei imunoglobulinei umane-Ig G. Lanţurile polipeptidice uşoare sînt marcate cu linii punctate iar cele grele cu linii continue (negru) (după Gally şi Edelman, 1972).

Cele două tipuri de lanţuri, lanţurile uşoare şi lanţurile grele, formează o serie de cute numite domenii. În regiunea constantă a lanţurilor grele există trei domenii: C_H3, C_H2 şi C_H1. (C=*constant;* H=*heavy*=greu); fiecare domeniu este format din aproximativ 108 aminoacizi. În regiunea constantă a lanţurilor uşoare există un singur domeniu cu o structură asemănătoare cu cea a domeniilor lanţurilor grele.

Regiunea variabilă are capacitatea de a se lega specific cu antigenii.

Domeniile constante intervin în alte procese imune. Par să se unească, de pildă, cu complementul generînd o serie de reacţii care duc la distrugerea bacteriilor.

CLASIFICAREA IMUNOGLOBULINELOR

În funcţie de diverşi parametri (greutate moleculară, compoziţie în aminoacizi şi mai ales de clasa lanţurilor grele), imunoglobulinele se împart în cinci clase: 3 majore — IgG, IgA, IgM — şi 2 minore — IgD şi IgE. Cele cinci clase de lanţuri grele se numesc γ, α, μ, δ şi ε.

În fiecare clasă de lanţuri grele există subclase. De exemplu, în clasa γ există subclasele $\gamma_1, \gamma_2, \gamma_3, \gamma_4$ iar în clasa α subclasele α_1 şi α_2.

Regiunea constantă a lanţurilor uşoare ale tuturor imunoglobulinelor este formată doar din două tipuri de lanţuri: K şi Λ. În acest fel o imunoglobulină G, de pildă, poate fi constituită din două lanţuri γ dintr-o anumită subclasă şi două lanţuri K ($K_2 \gamma_2$) sau Λ(Λ_2 K_2).

În regiunile constante ale lanţurilor grele şi uşoare apar variaţii mici în succesiunea aminoacizilor. Aceste variaţii se numesc alotipuri.

Iată acum o succintă caracterizare a celor cinci tipuri de imunoglobuline.

— IgG sînt constituite din două lanţuri grele γ şi două lanţuri uşoare, K sau Λ. Primele sînt formate din 420—440 de aminoacizi, ultimele din 210—230 de aminoacizi. IgG reprezintă 80—85% din totalul anticorpilor.

— IgA sînt formate din două lanţuri grele α şi din două lanţuri uşoare, K sau Λ. Deseori apar în formă de dimeri. Constituie 10% din anticorpii serici. Sînt prezente îndeosebi în salivă, lacrimi, secreţii nazale şi lapte.

— IgM au următoarea structură: două lanțuri grele μ și două lanțuri ușoare, K sau Λ. Constituie 5—10% din totalul anticorpilor. Sînt imunoglobuline de dimensiuni mari, cu greutate moleculară de 950 000. IgM sînt, de fapt, pentameri în care cele două brațe lungi și cele două brațe scurte împreună cu un monomer polipeptidic „J" sînt unite într-o structură în formă de inel. Din cauza dimensiunilor se mai numesc macroglobuline.

— IgD au următoarea structură: $\delta_2\Lambda_2$ sau δ_2K_2; reprezintă doar 1% din totalul anticorpilor.

— IgE — $\varepsilon_2\Lambda_2$ sau ε_2K_2 formează numai 0,01% din masa de anticorpi.

GENEZA ANTICORPILOR

Organismul este obligat să producă un număr impresionant de anticorpi împotriva unei considerabile diversități de antigeni — de la bacterii la substanțe neinfecțioase, ca polenul sau antigenul Rh. Sînt antigenice proteinele, polizaharidele și chiar și acizii nucleici. În general, induc un răspuns imun numai macromoleculele. Cu condiția de a aparține unui organism străin, indiferent dacă face parte din aceeași specie sau dintr-o specie străină și dacă și într-un caz și în celălalt macromolecula străină nu are aceeași structură cu a unei macromolecule sintetizate de receptor. De pildă, un om nu produce anticorpi față de albumina altui om, deoarece la toți indivizii albumina are aceeași compoziție. Antigenul este deci o substanță care antrenează un răspuns imun.

Sistemul imun este capabil să diferențieze ceea ce este propriu (*self*) de ceea ce îi este străin (*non self*), chiar dacă diferența se reduce la un singur aminoacid.

Există însă o excepție importantă. Dacă un nou născut, din orice specie de mamifer, primește un antigen străin, el îl tolerează, deoarece sistemul lui imun nu a început să funcționeze. Mai mult, mai tîrziu, el acceptă aceeași substanță (primită imediat după naștere). Această condiție se numește toleranță.

Cum poate un organism să producă o asemenea diversitate de anticorpi? Teoretic există numai două răspunsuri.

Conform teoriei lui Burnet, teoria selecției clonale, celulele precursoare ale limfocitelor producătoare de anticorpi recunosc toți antigenii. Deci în organism există un număr considerabil de celule fiecare producînd unul sau cîțiva anticorpi.

Antigenul pătruns în circulație selecționează și stimulează proliferarea celulelor capabile să producă anticorpul adecvat.

Conform celei de-a doua teorii, teoria liniei germinale, există mai multe mii de gene pentru porțiunea variabilă: numărul genelor este egal cu numărul variantelor existente pentru regiunea variabilă a lanțurilor ușoare și grele. Fiecare limfocit exprimă selectiv una dintre combinații. În acest fel ar apărea întreaga diversitate de anticorpi. Teoria este puțin probabilă. Dacă ea ar fi corectă, atunci ARNm pentru regiunea variabilă sau ADN-ul complementar acestui ARNm ar trebui să hibridizeze cu un mare număr de secvențe din genom. Or, s-a demonstrat că există un număr mic de secvențe ADN pentru regiunea variabilă.

De aceea se presupune că se sintetizează doar un număr mic de secvențe variabile și că ulterior prin mutații somatice, crossing-over sau, eventual, prin alte mecanisme apar clonele limfocitare.

Așa cum spuneam, fixarea anticorpului pe antigen are loc în regiunea variabilă. Anticorpul nu se combină cu tot antigenul, ci numai cu o mică parte numită determinant antigenic. Se presupune că antigenul se adaptează într-o adîncitură a anticorpului, pe principiul cheie-lacăt.

Unii antigeni au un singur determinant antigenic, dar alții, cum este și capsula proteică a virusului poliomielitei, au mai mulți determinanți.

GENETICA RĂSPUNSULUI IMUN

Răspunsul imun este controlat de un grup de gene care, la rîndul lor, condiționează atît răspunsul la antigeni, cît și reacția de histocompatibilitate.

Locusul major de histocompatibilitate la om este HLA (*Human Leucocyte antigen A*), echivalent cu locusul H-2 la șoarece. Un sub-locus al acestui sistem de gene este ocupat de genele Ir (răspuns imun), gene care modelează răspunsul imun. Aceste gene au fost descoperite la numeroase specii, de la cimpanzeu la găină, și probabil există și la om. Rolul lor este încă discutabil. După Munro și Waldmann (1978), ele par să intervină într-un mod specific în răspunsul la antigeni, modelînd reacțiile caracteristice ale limfocitelor T.

Sistemul HLA este relativ bine cunoscut. Așa cum am mai spus, într-un capitol anterior (interacțiunea ereditate—mediu), acest sistem este constituit dintr-un grup de gene si-

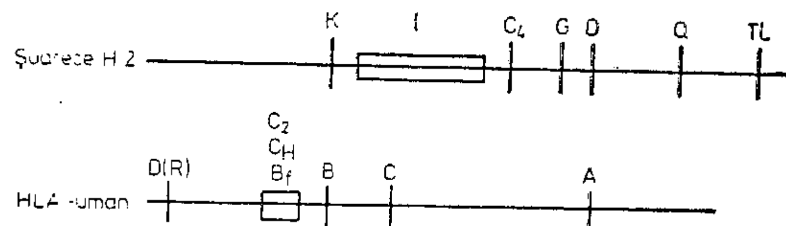


Fig. 87. Regiunea H-2 la șoarece și regiunea HLA umană (după Bodmer, 1978).

tuat pe brațele scurte ale cromozomului 6. Grupul este format din patru sau cinci gene: HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-D și probabil HLA-DR. Între genele HLA-B și HLA-D se găsesc genele care codifică o parte dintre primele componente ale complementului (fig. 87). Locii HLA-A, -B și -C sînt strîns legați.

Studiul recombinării a dus la concluzia că regiunea HLA reprezintă cam a 3 000-a parte a genomului uman. Aceasta înseamnă că sistemul este format din mai multe sute de gene, chiar dacă o parte din ADN este redundant.

Pe fiecare locus se găsesc numeroase alele: pe locusul A au fost descoperite 20 de alele, pe locusul B, 30, pe locusul C, 7 și pe ultimul 11. Numărul combinațiilor este imens — mai mult de 30 de milioane. Practic numai pentru acest sistem fiecare individ este un unicat. S-a demonstrat că cel puțin 80% dintre indivizi sînt heterozigoți pentru locii HLA-A, -B și -D și că aproximativ 75% dintre europeni au patru antigeni diferiți HLA-A și HLA-B.

S-au stabilit și funcția și produsul fiecărei gene. În funcție de aceste criterii, sistemul HLA a fost divizat în trei categorii (Degos, 1979):

— Prima categorie include genele HLA-A, HLA-B și HLA-C. Ele produc un lanț greu de 44 000 daltoni. Lanțul ușor, o β 2-microglobulină, este codificat de o genă situată în afara sistemului HLA, pe cromozomul 15. β 2 microglobulina controlează expresia genelor HLA-A, -B și -C pe suprafața celulelor.

Aceste gene, active în toate țesuturile, cu unele excepții au un rol major în eliminarea grefelor alogenice și în reacția contra celulelor infectate cu virusuri (fig. 88);

— A doua categorie cuprinde genele D și DR. Aceste gene controlează sinteza a două lanțuri de 28 000 și de 33 000 dal-

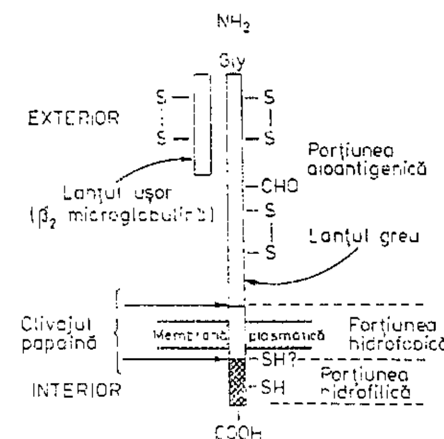


Fig. 88. Structura ipotetică a antigenilor HLA-A, HLA-B și HLA-C (după Strominger și colab., 1977).

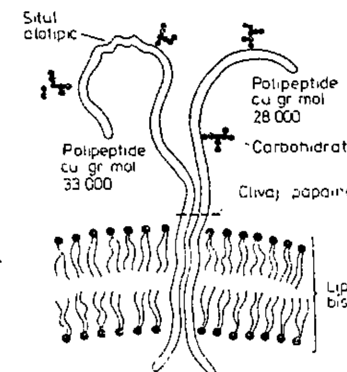


Fig. 89. Structura ipotetică a antigenului HLA-DR (după Snary și colab., 1977).

toni într-un număr limitat de celule: limfocite B, macrofage și în celulele epiteliale ale pielii. Produșii acestor gene sînt implicați în modelarea răspunsului imun (fig. 89);

— A treia categorie cuprinde trei gene — pentru C2, C3 și proactivatorul C3 — din sistemul complementului. Produșii acestor gene intervin în liza celulelor străine.

Toți antigenii se inserează în membrana celulară, pătrunzînd în citoplasmă. Se presupune că această orientare constituie cea mai bună cale de transmitere a informației din exteriorul celulei în interiorul ei.

Sistemul HLA este, astfel, unul dintre sistemele majore de apărare ale organismului.

După toate probabilitățile, genele sistemului HLA, sau cel puțin genele HLA-A, HLA-B și HLA-C ca și cele ale siste-

mului H-2 la șoarece, sînt rezultatul unei serii de duplicații, un fenomen similar celui care a dus la formarea genelor care specifică lanțurile hemoglobinei.

Există și alte sisteme de histocompatibilitate: ABO, Rh, MNP etc.

Răspunsul limfocitelor este controlat de un grup de gene numit MLC (*mixed leucocyte culture*). Tot ce se știe despre localizarea lor este că sînt situate pe un autozom. La șoarece acest locus este situat în același cromozom în care sînt situate și genele de histocompatibilitate și Ir.

DETERMINISMUL GENETIC AL ANTICORPILOR

Atît lanțurile grele, cît și lanțurile ușoare din regiunea constantă și din regiunea variabilă sînt condiționate genetic. Numărul genelor și dispoziția lor spațială au un caracter ipotetic. Se știe că cele patru subclase γ sînt specificate de 4 gene care se transmit ca o unitate. Alături de ele se găsesc genele α_1, α_2, μ_1, μ_2, δ_1, ε.

Regiunea variabilă a lanțurilor grele este controlată de cel puțin doi loci — H1 și H2.

Lanțurile ușoare sînt specificate de gene independente. Ca și în cazul precedent, trebuie să existe gene pentru regiunea constantă și pentru cea variabilă. Domeniul Ck este controlat de un singur locus, Inv, cu două alele, care diferă printr-un singur aminoacid. Inv 1 specifică o moleculă k cu leucină în poziția 191 și Inv 3 o moleculă care are în aceeași poziție valină.

Domeniul Vk pare să fie controlat de trei gene nealele.

Domeniul Cλ este specificat de două sau eventual trei-patru secvențe ADN, iar domeniul Vλ de 5 gene λI—λV.

JONCȚIUNEA REGIUNILOR V ȘI C

Formarea unui anticorp implică integrarea celor două regiuni, C și V. Deoarece există o uriașă diversitate de regiuni variabile și un număr mic de regiuni constante, se poate presupune că cele două regiuni sînt sintetizate separat, fiind unite printr-un mecanism oarecare în celulele somatice. Aceasta înseamnă că regiunea constantă și regiunea variabilă a lanțurilor grele ca și a lanțurilor ușoare sînt controlate de două gene — una pentru regiunea constantă și una pentru regiunea variabilă. Ipoteza ar putea fi completată, presupunînd fie că există gene independente cu ARNm independent și lanțuri proteice independente care fuzionează ulterior, fie că există gene separate, dar că ARNm fuzionează și ca atare că nu mai este necesară fuzionarea somatică.

Pentru a verifica această ipoteză, Hozumi și Tanegawa (1976) și Tanegawa (1978) au izolat ARNm pentru lanțurile k dintr-o tumoră de șoarece (plasmocitom), l-au marcat cu I^{125} și l-au hibridizat cu ADN-ul care specifică și regiunea V și regiunea C a lanțurilor k. În același timp au secționat acest ARNm și au marcat numai porțiunea 3', porțiune care specifică regiunea constantă a lanțurilor k. Apoi au hibridizat și această porțiune. Cu ajutorul enzimelor de restricție și prin electroforeză pe gel, au analizat ADN-ul hibridizat. Ei au conchis că ambele secvențe, Vk și Ck, se găsesc pe același segment de restricție. Deci cele două gene sînt apropiate.

Ei au repetat aceleași experiențe pe ADN embrionar. Cu totul neașteptat, au remarcat că cele două secvențe Vk și Ck sînt situate în regiuni ADN separate. Pe baza acestor date, au ajuns la concluzia că genele pentru regiunea constantă și cele pentru regiunea variabilă sînt localizate distinct și că apoi în cursul diferențierii limfocitelor are loc rearanjarea lor, printr-o translocație a ADN-ului.

Ulterior, Tanegawa a arătat că la adult cele două gene nu sînt contigue; ele sînt separate printr-un segment netranslat, de 1 200 de baze.

TRANSPLANTELE

Deși transplantele, îndeosebi cele de rinichi și de cornee, au intrat de mult în practica medicală, frecvența succeselor rămîne încă mică. După datele lui Calne (1976), 50% dintre bolnavii care au primit un rinichi de cadavru elimină grefa în următorii doi ani. Mulți dintre rinichii care au funcționat normal doi ani își vor pierde potențialul funcțional după șapte—opt ani.

Acceptarea sau respingerea unei grefe este un fenomen imunologic, așa cum au demonstrat încă din 1940 Medawar și Gibson. După eliminarea primei grefe, următoarea va fi distrusă mai repede decît prima. Dacă prima grefă este eliminată în 10—14 zile cea de-a doua va fi eliminată în numai cinci—șase zile.

sau ale pielii (dermatite), și apariția lupusului eritematos. Ultimul pare să fie frecvent îndeosebi la homozigoții pentru deficiența componentului doi.

TULBURĂRILE AUTOIMUNE

Una dintre condițiile esențiale ale supraviețuirii este capacitatea organismului de a identifica componentele proprii. Dacă acest mecanism nu funcționează adecvat, atunci sistemul imun distruge celulele proprii recunoscute eronat ca non-self.

Asemenea erori survin uneori și au ca rezultat apariția bolilor autoimune.

O formă particulară de tiroidită, tiroidita Hashimoto, este consecința acțiunii anticorpilor împotriva componentelor tiroidei. Un asemenea tip de tiroidită poate fi reprodus experimental injectînd animalelor de experiență extracte tiroidiene provenite de la alte animale. Tireoglobulina împreună cu altă proteină tiroidiană stimulează formarea anticorpilor.

Confirmarea că leziunile tiroidiene sînt determinate imunologic a fost adusă de prezența autoanticorpilor în serul bolnavilor. Nu se știe prea bine de ce tireoglobulina se comportă ca un antigen străin. Sînt două posibilități: fie că proteina a suferit o transformare, fie că în mod normal este separată de restul organismului și ca atare organismul nu a dezvoltat o toleranță imunologică. Dacă tireoglobulina pătrunde în circulație atunci apar anticorpi. În realitate, situația este mult mai complicată, deoarece tireoglobulina singură nu produce în condiții experimentale tiroidită. Ea induce formarea anticorpilor, dar după cîtva timp autoanticorpii sînt eliminați. De aceea se presupune că ar putea fi implicată imunitatea mediată celular.

Indiferent de mecanismul intim, procesele distructive antrenează apariția hipotiroidismului.

Insuficiența corticosuprarenală, pentru a da alt exemplu, este uneori consecința unui proces distructiv autoimun. În serul bolnavilor există anticorpi specifici asociați deseori cu anticorpi împotriva mucoasei gastrice și împotriva tiroidei (Visser, 1975).

PROFILAXIA TULBURĂRILOR EREDITARE ȘI A MALFORMAȚIILOR CONGENITALE INDUSE DE MEDIU

Datele prezentate anterior demonstrează că tulburările ereditare constituie una dintre problemele majore ale medicinii. Atît tulburările ereditare, cît și malformațiile congenitale induse de mediu tind să crească, deoarece:

— Datorită progreselor medicinii numeroși indivizi handicapați genetic, care înainte erau eliminați, supraviețuiesc și se reproduc. Implicit frecvența mutațiilor specifice se va amplifica. Este cert că în viitorul apropiat din ce în ce mai multe boli ereditare vor beneficia de un tratament eficient. Ca atare va crește și frecvența altor mutații;

— În mediul ambiant pătrund permanent noi factori cu acțiune mutagenă și teratogenă.

În același timp însă prin dispariția izolatelor incidența multor boli recesive va diminua.

Profilaxia tulburărilor ereditare și a malformațiilor congenitale induse de mediu reclamă o politică sanitară care urmărește reducerea frecvenței mutațiilor. Ea se poate realiza pe mai multe căi:

— organizarea unor centre de sfaturi genetice care stabilesc riscul unei familii de a avea un copil anormal sau al unui individ de a face cîndva o tulburare ereditară;

— detectarea heterozigoților;

— detectarea prenatală a embrionilor cu anomalii ereditare;

— reducerea sau eliminarea surselor mutagene și teratogene.

Firește, o asemenea politică reclamă participarea factorilor de decizie din fiecare țară, precum și o largă informare a populației. Indiferent de măsurile care se vor lua, bolile ereditare nu vor dispărea niciodată, deoarece vor apărea permanent noi mutații.

PROFILAXIA MALFORMAŢIILOR CONGENITALE INDUSE DE MEDIU

Un grup, probabil nu prea mare, de malformaţii congenitale sînt induse de mediu. Agenţii teratogeni din mediul ambiant pot fi împărţiţi în trei grupe:
— fizici: radiaţiile ionizante;
— chimici: medicamentele;
— biologici: virusurile.

RADIAŢIILE IONIZANTE

Rolul teratogen al radiaţiilor ionizante este cunoscut de mult şi este demonstrat de numeroase cercetări experimentale. Astfel, iradierea, în condiţii experimentale, a embrionului antrenează apariţia malformaţiilor. Deosebit de sensibil este sistemul nervos central al embrionului şi al fătului. Curînd după iradiere apare o necroză celulară, urmată de dezorganizarea şi reducerea dimensională a tubilor neurali.

Fenomene similare s-au observat şi printre copiii iradiaţi în timpul vieţii intrauterine. Riscul este proporţional cu doza primită. Nu se ştie încă dacă există sau nu un prag sub care iradierea este inofensivă. În investigaţiile radiologice obişnuite doza de iradiere a embrionului oscilează între 10 milirazi şi 5 000 (5r). Iradierea poate induce:

— moartea embrionului. Ea survine numai după iradieri masive, cu doze de cîteva mii de ori mai mari decît cele utilizate în radiodiagnostic. Asemenea doze au fost folosite cu mulţi ani în urmă în tratamentul cancerului de col uterin. Dacă bolnava a fost însărcinată a eliminat produsul de concepţie.

— malformaţii majore. Un asemenea accident este posibil numai în cazul în care iradierea are loc între a doua şi a şasea săptămînă de viaţă intrauterină. Se pare că sînt teratogene doar dozele mari-25r (25 000 de milirazi) (Brent, 1967). Sub acest prag riscul ar fi minim. Aşa s-a întîmplat la Hiroshima şi Nagasaki. Mamele iradiate în timpul bombardamentelor atomice au născut copii cu microcefalie şi înapoiere mintală. Gravitatea anomaliilor a fost direct proporţională cu distanţa la care se găseau mamele faţă de hipocentru.

— cancer şi leucemie. Datele de care dispunem sînt contradictorii. Astfel, Mac Mahon (1962) susţine că toţi copiii iradiaţi în cursul vieţii intrauterine au un risc semnificativ mai mare (cu 50% mai mare decît copiii neiradiaţi) de a face pînă la vîrsta de 10 ani fie cancer, fie leucemie. Jablon (1975) afirmă însă că riscul este cu totul neglijabil. Concluzia lui se bazează pe cercetările efectuate printre 1 292 de copii iradiaţi în cursul vieţii intrauterine, în timpul bombardamentelor de la Hiroshima şi Nagasaki. În această serie a fost observat un singur caz de cancer. Teoretic ar fi trebuit să apară 36 de tumori.

FACTORI CHIMICI

Numeroase medicamente sînt teratogene în condiţii experimentale. Nu se ştie însă dacă aceleaşi substanţe tulbură şi dezvoltarea embrionului uman. Extrapolarea trebuie făcută cu prudenţă, deoarece există diferenţe de specie şi deoarece în experimentele realizate s-au utilizat doze mult mai mari decît cele folosite în terapia umană. Există totuşi cîteva grupe de medicamente cert teratogene şi la om.

— Substanţele androgene de tipul testosteronului şi al progesteronului de sinteză, administrate mamei la începutul sarcinii, în perioada edificării organelor genitale, masculinizează organele genitale externe. Malformaţia este, fireşte, prezentă numai la fete. Perioada de maximă sensibilitate se întinde între a 45-a şi a 160-a zi de graviditate. Efecte similare au şi tumorile materne secretante de androgeni.

— Citostaticele şi antimetaboliţii sînt substanţe larg utilizate în terapia cancerului. Administrate mamei la începutul sarcinii au puternice efecte teratogene.

— Aminopterina a fost folosită în medicină ca abortiv. Deşi a fost eficientă ca atare, într-un procent relativ restrîns de cazuri evoluţia embrionului a continuat. Copiii rezultaţi prezentau un complex caracteristic de malformaţii: anomalii cranio-faciale, despicătură palatină, scurtarea braţelor.

— Talidomida este un sedativ fără efecte secundare majore. Înainte de a fi fost introdus în practica medicală a fost testat pe animalele obişnuite de laborator, pe şoarece şi pe şobolan. Medicamentul nu a antrenat nici un fel de malformaţii. Abia după ce s-a demonstrat că este un agent teratogen extrem de puternic la om, cercetările au fost reluate şi s-a văzut că malformaţii similare (anomalii ale membrelor superioare şi inferioare) apar şi la iepuri şi la maimuţe.

Lenz şi Knapp (1962) au urmărit incidenţa şi tipul de malformaţie, în funcţie de perioada de dezvoltare a embrionului. Ei au conchis că cele mai grave malformaţii (absenţa totală a braţelor) s-au întîlnit la copiii ai căror mame au luat talidomida între a 25-a şi a 30-a zi de graviditate. Anomaliile majore ale membrelor inferioare asociate cu malformaţii mai puţin severe ale membrelor superioare au fost observate la copiii ai căror mame au luat medicamentul între a 30-a şi a 35-a zi de sarcină.

— Dintre celelalte medicamente larg utilizate, numai cîteva sînt teratogene. Fenotiazinele folosite ca sedative şi antiemetice la începutul sarcinii măresc semnificativ rata malformaţiilor congenitale, de la 1,6% la 5,7% într-o mare serie studiată în Franţa.

Din punct de vedere chimic se deosebesc două categorii de tranchilizante: carbamaţii şi benzodiazepinele. Ambele sînt teratogene.

— În sfîrşit, chinina şi streptomicina administrate la începutul sarcinii induc surditate.

— În cursul anilor s-au raportat numeroase alte medicamente cu efecte negative asupra embrionului: tetraciclinele au fost incriminate în apariţia unor anomalii ale smalţului dentar; tolbutamida, sulfamidă hipoglicemiantă, produce anomalii oculare la şobolan; vitamina D, în doze excesive, a fost incriminată în geneza stenozei aortice; corticoizii induc despicătură palatină, în procente variabile, la şoarece; trimetadionul, medicament antiepileptic, pare să genereze şi el malformaţii congenitale. Dar nici unul dintre aceste medicamente nu este sigur teratogen la om. Rămîne, de asemenea, incertă acţiunea estroprogestativelor. Mai multe cercetări sugerează că aceşti hormoni măresc frecvenţa anomaliilor sistemului nervos central.

În ultimii ani a început să se contureze tot mai clar ideea că o serie de substanţe chimice induc tulburări de comportament, dacă sînt administrate mamei la începutul sarcinii. Aceste substanţe au fost numite teratogeni comportamentali. Lista lor este deocamdată destul de mică: alcoolul, hidantoina, trimetadionul, heroina şi unele medicamente administrate în timpul sarcinii (Vorhees şi col., 1979).

Relaţia dintre medicamente şi comportamentul copiilor rămîne încă neclară, deoarece toate cercetările au fost efectuate asupra elevilor, deci mult timp după administrarea medicamentelor. Cercetările efectuate pe şobolani cu medicamente psihotrope, ca propoxifenul, au demonstrat că există două tipuri de teratogeni comportamentali: un tip care induce malformaţii ale sistemului nervos central şi un tip care induce tulburări de comportament pure, adică fără alte anomalii de dezvoltare.

FACTORII BIOLOGICI

S-a vorbit mult despre acţiunea teratogenă a virusurilor. După numeroase studii prospective şi retrospective, s-a ajuns la concluzia că numai trei virusuri pot tulbura dezvoltarea embrionară. Cel mai important este virusul rubeolei. Contractarea infecţiei la începutul sarcinii antrenează apariţia unui număr important de malformaţii congenitale (fig. 90). Incidenţa acestor malformaţii este proporţională cu vîrsta la care embrionul a contractat infecţia: este cu atît mai mare, cu cît embrionul este mai mic, aşa cum se vede din tabelul 41.

Virusul rubeolic poate infecta fătul şi după primul trimestru de viaţă intrauterină. Infecţiile tardive induc tulburări hepatice, cardiace şi osoase.

Virusul infecţiilor citomegalice are efecte similare. Efecte cert detrimentale are şi virusul herpetic.

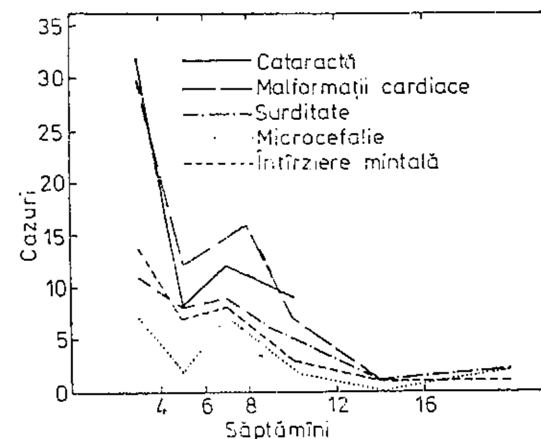


Fig. 90. Frecvenţa malformaţiilor congenitale la 100 de copii născuţi din mame care au făcut rubeolă în timpul sarcinii (după Dekaban şi Corman, 1958).

Tabelul 41

Frecvența malformațiilor congenitale după infecția cu rubeolă în timpul vieții intrauterine (după Sallomi, 1966)

	Vîrsta produsului de concepție (în săptămîni) în perioada în care mama a contractat infecția			
	1—4	5—8	9—12	1—8 inclusiv
Număr total malformați	14/23	19/72	10/127	39/104
Copii malformați (în %)	60,9	26,4	7,9	37,5

Efectele teratogene ale celorlalte virusuri sînt incerte. În condiții experimentale virusul gripal determină apariția hidrocefaliei.

Se pare că virusul varicelei determină malformații congenitale severe — hipoplazia extremităților, hipoplazia degetelor, leziuni ale sistemului nervos central, malformații cardiace și cicatrice cutanate. În orice caz, numai un procent foarte mic dintre feții infectați prezintă malformații.

Se discută încă rolul teratogen al toxoplasmozei, boală determinată de un parazit intracelular — *Toxoplasma gondii*. Sursa de infecție o constituie deseori carnea de porc sau de oaie negătită. Este interesant că mama face frecvent o formă asimptomatică. S-a remarcat apoi că numai o parte dintre embrionii infectați prezintă malformații. Mamele care nu prezintă fenomene clinice de toxoplasmoză nasc deseori copii cu tulburări neurologice care se dezvoltă în primul an de viață; aceiași copii au la 2 ani un coeficient de inteligență mai mic decît al copiilor martor.

Mamele care fac în timpul sarcinii forma asimptomatică de toxoplasmoză nasc copii cu micro- sau hidrocefalie, epilepsie, înapoiere mintală, corioretinită și calcificări cerebrale. 7% dintre copiii studiați de Desmonts și Couvreur (1967) au murit în perioada neonatală.

TULBURĂRILE ENDOCRINE MATERNE

Dintre tulburările endocrine materne una singură influențează negativ evoluția embrionului și a fătului: diabetul zaharat. Mamele cu această boală nasc mai des decît mamele normale copii cu malformații congenitale: 4,9% față de 2—3% în seria martor. În alte cercetări incidența era semnificativ mai mare, dar aceste rezultate trebuie privite cu rezerve, deoarece seriile nu au fost corect constituite sau deoarece seriile martor nu erau suficient de mari.

Feții mamelor diabetice mor deseori înainte de naștere. O parte dintre accidente sînt determinate de tulburările metabolice ale mamei. O altă parte nu au nici o explicație plauzibilă (Hoet, 1975).

Mortalitatea perinatală este de asemenea mai mare printre feții proveniți din mame diabetice.

Mamele diabetice ca și mamele prediabetice nasc frecvent copii hiperponderali. Macrozomia este însoțită de o dezvoltare exagerată a inimii, a rinichilor și a plămînilor.

PROFILAXIA BOLILOR EREDITARE

Orice politică de profilaxie genetică ce se va contura în viitorul apropiat va include măsuri energice de reducere a surselor mutagene. Eliminarea lor va fi extrem de dificilă, dacă nu cumva imposibilă, deoarece mulți factori mutageni fac parte integrantă din civilizația noastră.

Cei mai importanți agenți mutageni sînt radiațiile ionizante, îndeosebi razele X și substanțele chimice.

Efectul mutagen al radiațiilor ionizante este bine cunoscut de cîteva decenii. Astfel, după iradierea gonadelor masculine cu o doză relativ mică de raze X (100 r) se instalează o perioadă de sterilitate. Ulterior fertilitatea se restabilește. Dar în timpul iradierii apar mutații genice și cromozomale. Cele mai multe mutații cromozomale apar în spermatogonii (celulele de origine ale spermatozoizilor) și în perioada postmeiotică. Mutațiile genice apar în spermatogonii.

Consecințele acestor mutații sînt diferite. Celulele germinale cu anomalii cromozomale sînt eliminate în cursul diviziunilor meiotice. Cele care au supraviețuit meiozei sînt incluse în gameți și implicit pot condiționa nașterea unor copii citogenetic anormali.

Iradierea ovarului are consecințe oarecum diferite. Ocitul matur este foarte vulnerabil. Dacă este iradiat și apoi fecundat va genera un zigot cu aberații cromozomale. Em-

brionul anormal citogenetic poate fi eliminat ulterior. Simultan, în oocit survin şi mutaţii genice.

Numărul de mutaţii este condiţionat de modul în care a fost administrată doza. O doză cronică (administrată în timp) induce numai 1/4 din numărul de mutaţii pe care îl antrenează aceeaşi doză de radiaţii administrată acut (o singură dată). După toate probabilităţile, în primul model intervin enzimele de reparaţie. Datele prezentate au fost obţinute la şoareci. Ele pot fi însă extrapolate cu suficient de multă siguranţă şi la om.

S-a discutat foarte mult în genetică dacă există prag sub care iradierea este inofensivă şi care este doza de dublare. Nu există prag, adică nu există doză de iradiere inofensivă. Doza de dublare (doza de radiaţii care dublează rata mutaţiilor spontane) este condiţionată de tipul de iradiere. Ea este mai mare în iradierile acute decît în cele cronice. După Lüning şi Searle (1971), doza de dublare pentru celulele aflate în stadiile premeiotice este următoarea:

— mutaţii dominante cu efecte morfologice evidente 16—26r
— mutaţii recesive în 7 loci specifici 32r
— mutaţii recesive letale 51r
— consecinţe datorită aberaţiilor cromozomale structurale 31r

Din prezentarea acestor date se desprinde atitudinea practică. Astfel, se va evita fecundarea în perioada imediat următoare iradierii. După aceea riscul de a avea descendenţi citogenetic anormali scade.

Majoritatea mutaţiilor radio-induse sînt recesive. Ca atare, nu se vor manifesta în generaţia următoare, ci mai tîrziu cînd vor fi în formă homozigotă. Singurele care au consecinţe fenotipice sînt mutaţiile dominante. Rata de mutaţie spontană a genelor dominante este însă mică — 1/100 000 pentru o genă, pe generaţie. Aşa încît dublarea dozei de iradiere va mări foarte puţin riscul de a avea descendenţi anormali. După aproximativ trei ani cele mai multe dintre mutaţiile radioinduse sînt reparate.

Radiaţiile pot antrena şi mutaţii somatice: genice şi cromozomale. Astfel, s-a observat că printre copiii iradiaţi în timpul dezvoltării intrauterine frecvenţa heterocromiilor a crescut de 10 ori. Printre aceiaşi copii este mai mare decît în seria de control şi frecvenţa angioamelor cutanate.

Se poate conchide că rolul mutagen al radiaţiilor ionizante aşa cum sînt folosite în medicină, nu este atît de mare cum s-a crezut multă vreme. În orice caz, s-a recomandat ca membrii populaţiilor umane să nu primească o doză gonadală mai mare de 10 roentgeni în perioada cuprinsă între naştere şi vîrsta de 30 de ani.

Se ştie destul de puţin despre acţiunea mutagenă a substanţelor chimice. În condiţii experimentale unele dintre ele sînt mutagene. Probabil au aceeaşi acţiune şi la om. Alte substanţe au efecte mutagene certe la unele specii: cafeina şi teobromina la *Escherichia colli* şi *Drosophila melanogaster*, dar nu au la şoarece şi probabil nici la om.

Practic singurul sfat util este acela ca bolnavii supuşi unui tratament cu medicamente potenţial mutagene să evite fecundaţia timp de aproximativ 8 săptămîni.

Cea de-a doua etapă a profilaxiei genetice implică detectarea cuplurilor care au un risc crescut de a avea copii handicapaţi genetic, precum şi descoperirea indivizilor care au o susceptibilitate deosebită de a dezvolta o tulburare genetică. Aceşti indivizi pot beneficia de un sfat genetic adecvat.

Un sfat genetic este corect numai dacă în prealabil:

— s-a asigurat un diagnostic exact al tulburării genetice;
— s-a făcut o analiză amănunţită a familiei.

Recunoaşterea exactă a naturii tulburării, precum şi modul ei de transmitere pun deseori probleme deosebit de dificile. Aceeaşi boală poate fi condiţionată uneori de o mutaţie genică şi alteori de un factor de mediu (fenocopie). Situaţia devine şi mai complicată în cazul în care nu s-a stabilit încă modul de transmitere al mutaţiei. Nu puţine mutaţii, este vorba în special despre cele rare, par să se transmită dominant într-o familie şi recesiv autozomal sau legat de sex în alta.

Apoi mutaţiile dominante au uneori penetranţă incompletă şi expresivitate variabilă.

Istoria familială aduce la rîndul ei informaţii utile. De pildă, consangvinitatea părinţilor întăreşte presupunerea că tulburarea prezentă la copii este condiţionată de o mutaţie recesivă.

Odată ce natura genetică a bolii a fost stabilită şi se ştie şi modul ei de transmitere, se calculează riscul de a avea descendenţi anormali. Dacă istoria familială este pozitivă, tulburarea se poate transmite în trei feluri:

— dominant autozomal;
— recesiv autozomal;
— legat de sex-recesiv sau dominant.

Transmiterea dominantă se caracterizează prin propagarea tulburării din generație în generație. De cele mai multe ori este afectat doar unul dintre părinți. În asemenea circumstanțe fiecare dintre descendenții lui are un risc de 50% de a fi și el afectat. Foarte rar se căsătoresc doi heterozigoți. Riscul crește considerabil: 50% dintre copii sînt heterozigoți, 25% homozigoți-anormali și sau 25% homozigoți normali. Raportul este astfel 3:1 (3 afectați, 1 normal). Din punct de vedere teoretic, homozigoții anormali ar trebui să manifeste fenomene clinice mai grave decît heterozigoții. Presupunerea este confirmată de cîteva observații.

Există un număr de mutații cu penetranță incompletă. Așa este mutația pentru ectrodactilie, o malformație complexă a extremităților. În aceste cazuri este imposibil de spus dacă un individ normal rezultat dintr-o căsătorie în care unul dintre părinți este malformat este homozigot normal sau heterozigot. Diferențierea are o deosebită valoare practică, deoarece în prima ipoteză individul va avea numai copii normali, iar în cea de-a doua va avea și copii normali și copii malformați.

Se cunosc în istoria medicinii boli care s-au transmis de-a lungul unui mare număr de generații. Maximilian și col. (1962) au descris o familie în care ectrodactilia s-a transmis la cel puțin 24 de membri în cinci generații.

Cele mai multe boli condiționate de mutații dominante nu pot fi detectate prenatal. În asemenea cazuri se stabilește doar riscul recurenței.

Profilaxia tulburărilor condiționate de mutații dominante autozomale este îngreuiată și de faptul că un procent important din aceste tulburări este rezultatul unor noi mutații.

Va putea fi redusă astfel îndeosebi frecvența tulburărilor cu *fitness* biologic normal, ca ultimele trei boli din tabelul 42.

Tulburările recesive se manifestă doar la homozigoți. Aceasta înseamnă că părinții sînt heterozigoți. Heterozigoția părinților devine certă abia după nașterea unui copil handicapat. Riscul ca viitorul copil să fie și el anormal se calculează ușor (vezi transmiterea mendeleeană). El este de 25% pentru fiecare copil. Ca atare, într-o fratrie (totalitatea copiilor născuți dintr-un cuplu) poate exista un singur copil afectat sau pot fi afectați toți copiii. Pe serii mari homozigoții anormali

Tabelul 42

Proporția aproximativă de bolnavi cu noi mutații (în bolile dominante autozomale)

(după Goldstein și Brown, 1977)

Tulburarea	Procentul
Sindromul Apert (acrocefalosindactilia)	>95
Acondroplazia	80
Scleroza tuberoasă	80
Neurofibromatoza	40
Sindromul Marfan	30
Distrofia miotonică	25
Boala lui Huntington	·1
Rinichiul polichistic al adultului	1
Hipercolesterolemia familială	<1

formează 25% din totalul copiilor. În practică se întîlnesc situații mult mai complexe. De pildă, fratele sănătos al unui bolnav, cu o tulburare recesivă autozomală, vrea să știe care este riscul de a avea și el copii anormali. Răspunsul depinde de antecedentele viitoarei soții, de gradul de rudenie, dacă există, de frecvența genei în populație. Pe baza acestor date se calculează riscul. În general, el este mic sau chiar cu totul neglijabil. În principiu, cu cît mutația este mai rară cu atît este mai mic riscul.

Tulburările condiționate de mutații recesive legate de X apar îndeosebi la băieți. Sporadic se întîlnesc și la fete dacă tatăl este afectat și dacă mama este purtătoare. De cele mai multe ori, dacă mutația este rară, ele provin din uniuni consangvine. Numai în ipoteza în care mutația este frecventă, așa cum este mutația pentru deficiența glucozo-6-fosfat-dehidrogenazei, femeile afectate sînt relativ numeroase. Oricum, chiar și în asemenea cazuri, frecvența lor este mai mică decît cea a bărbaților.

Heterozigotele nu manifestă, în mod obișnuit, nici o tulburare clinică. Biochimic însă pot prezenta anomalii mai mult sau mai puțin evidente. Fenomenul se datorește inactivării întîmplătoare a unuia dintre cei doi cromozomi de sex X. Mai exact, nivelul unei enzime este condiționat de proporția gonozomilor X cu alela normală activi.

Una dintre ele este galactozo-1-fosfat-transferaza. Această enzimă este deficientă în galactozemie. La homozigoții anormali este blocată conversiunea galactozei în glucoză. Secun-

dar are loc o acumulare de galactozo-1-fosfat în țesuturi, urmată de alterarea unor procese metabolice.

Heterozigoții au o activitate intermediară între homozigoții normali și cei anormali (activitatea enzimatică este determinată în eritrocite).

În numeroase alte erori de metabolism heterozigoții au, de asemenea, o activitate enzimatică intermediară. Excepțiile sînt puține. În unele tulburări heterozigoții au o activitate enzimatică ceva mai mare sau ceva mai mică decît cea așteptată teoretic — 50% din nivelul homozigoților normali (tabelul 43).

Tabelul 43

Tulburări ereditare în care defectul enzimatic poate fi detectat la heterozigoți (după Harris, 1975)

Condiția	Enzima
Histidinemia	histidin-deaminaza
Homocistinuria	cistation-sintetaza
Aciduria arginino-succinică	arginino-succinaza
Deficiența hexochinazei	hexochinaza eritrocitară
Deficiența glucozo-fosfat-izomerazei	glucozofosfat-izomeraza
Deficiența triozofosfat-izomerazei	triozofosfat-izomeraza
Deficiența piruvat-kinazei	piruvat-kinaza
Deficiența difosfoglicerat-mutazei	difosfoglicerat-mutaza
Deficiența glucozo-6-fosfat-dehidrogenazei	glucozo-6-fosfat-dehidrogenaza
Deficiența galactokinazei	galactokinaza
Maladia Anderson	amilo 1,4-1,6-transglucozidaza
Acatalazia	catalaza
Methemoglobinemia congenitală	NADH diaforaza
Aciduria orotică	orotidin-5'-fosfat-decarboxilaza și orotidin-5'-fosfat-pirofosforilaza
Hipofosfatazia	fosfataza alcalină
Boala Tay-Sachs	N-acetil-hexoaminidaza A
Boala van Gierke	glucozo-6-fosfataza
Boala Lesch-Nyhan	hipoxantin guanină fosfo-ribo-ziltransferaza

Există și alte căi de detectare a heterozigoților. De pildă, heterozigoții pentru mutația care condiționează sindromul Hurlei sau pentru mutația care condiționează sindromul Hunter prezintă granulații metacromatice în limfocite și în fibroblaști.

Studiul heterozigoților este una dintre cele mai actuale preocupări ale geneticii umane. Cu puține excepții însă, nu se poate face o cercetare de masă, deoarece cele mai multe erori de metabolism sînt rare și deoarece prețul investigației este prohibitiv. Sînt detectați sistematic doar heterozigoții pentru talasemie în Italia, heterozigoții pentru Hb S în unele colectivități din S.U.A. și heterozigoții pentru maladia Tay-Sachs în cîteva comunități etnice din S.U.A.

Detectarea lor ridică sau poate ridica întrebări dificile. Cum va accepta individul ideea că este heterozigot, presupunînd că a înțeles bine semnificația termenului? Cum va accepta comunitatea existența heterozigoților? Vor fi considerați stigmatizați? Sînt întrebări la care nu avem încă răspunsuri clare.

PROFILAXIA ANOMALIILOR CROMOZOMALE

Cele mai multe dintre aberațiile cromozomale numerice sînt accidente sporadice și nerepetabile.

Profilaxia lor este dificilă, deoarece se știe puțin despre factorii care favorizează non-disjuncția. Este cert doar că există o relație între vîrsta mamei și riscul de a avea un copil cu o trizomie autozomală sau cu o polizomie autozomală-47, XXY sau 47, XXX. Riscul crește paralel cu vîrsta mamei. În tabelul 44 este prezentată frecvența sindromului Down în funcție de vîrsta mamei.

După vîrsta de 40 de ani riscul de a avea un copil cu sindrom Down este mare. Mai puțin clar este rolul jucat de vîrsta tatălui. După nașterea unui copil cu o trizomie liberă riscul recurenței este însă neglijabil.

Profilaxia anomaliilor structurale este mult mai complicată, deoarece deseori copii cu trizomii sau monozomii parțiale provin din părinți cu translocații echilibrate.

Sindromul Down ilustrează foarte clar complexitatea problemelor pe care le pune stabilirea riscului recurenței. Acest sindrom este condiționat de o trizomie 21. Cromozomul suplimentar poate fi liber sau poate fi translocat pe alt cromozom. Ca atare, părinții care au un asemenea copil:

— sînt citogenetic normali;

— unul dintre ei are un mozaic germinal: celule cu trizomie 21 și celule normale;

Tabelul 44

Frecvenţa sindromului Down în funcţie de vîrsta mamei
(după Hook şi Chambers, 1977)

Vîrsta mamei	Frecvenţa sindromului Down
20	1/1923
21	1/1695
22	1/1538
23	1/1408
24	1/1299
25	1/1205
26	1/1124
27	1/1053
28	1/990
29	1/935
30	1/885
31	1/826
32	1/725
33	1/592
34	1/465
35	1/365
36	1/287
37	1/225
38	1/177
39	1/139
40	1/109
41	1/85
42	1/67
43	1/53
44	1/41
45	1/32
46	1/25
47	1/20
48	1/16
49	1/12

— unul dintre ei este purtătorul unei translocaţii echilibrate.

În prima ipoteză riscul naşterii unui nou copil cu aceeaşi aberaţie cromozomală este foarte mic — 1—2%.

Nu foarte rar părinţii clinic normali au un mozaic. În majoritatea cazurilor mozaicul a fost găsit la mamă. Riscul de a avea un copil cu trizomie 21 depinde de frecvenţa celulelor germinale citogenetic anormale. Dar cum nu există metode curente de cercetare a structurii cromozomale a gonadelor, nu se poate stabili cert nici riscul recurenţei.

Aproximativ 4% dintre copiii cu sindrom Down au o translocaţie. Cromozomul supranumerar este translocat pe alt cromozom: fie pe un cromozom din grupa D, fie pe unul din grupa G. Extrem de rar translocaţia implică alt cromozom. În general, jumătate dintre copiii cu translocaţie au o translocaţie D/G şi jumătate G/G. Translocaţiile D/G sînt de trei feluri: 13/21, 14/21 şi 15/21. Cu toate acestea, 90% dintre translocaţii sînt 14/21 şi 10% sau ceva mai puţin sînt 15/21. În mod cu totul excepţional apar translocaţii 13/21 — dacă cumva apar.

Translocaţiile G/G sînt de două feluri: 21/21 şi 21/22.

Jumătate dintre translocaţiile D/G sînt moştenite. Dintre translocaţiile G/G numai 6% sînt moştenite. Restul sînt sporadice.

Riscul recurenţei depinde de tipul translocaţiei şi de sexul purtătorului — mama sau tatăl. Translocaţiile D/G sînt moştenite de obicei de la mamă. Teoretic purtătoarele acestei translocaţii pot avea patru tipuri de copii (fig. 91): cu trizomie 21; cu translocaţie; normal; cu monozomie 21.

Deoarece ultimul tip este letal, o mamă cu translocaţie D/G are doar trei feluri de copii. Teoretic, riscul de a avea un nou copil cu trizomie 21 este 33%. Riscul practic este mult mai mic — 10—15% dacă mama este purtătoarea translocaţiei şi aproximativ 5% dacă tatăl este purtătorul translocaţiei.

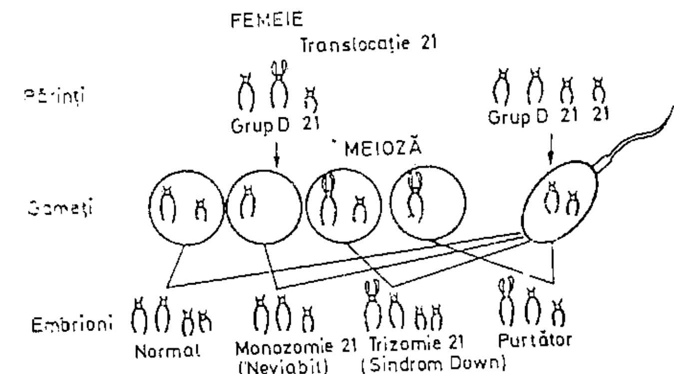


Fig. 91. Riscul recurenţei pentru produsul de concepţie al purtătorilor unei translocaţii (D/G (Tipurile de descendenţi ai unei mame cu o translocaţie D/G).

În translocaţia 21/22 riscul recurenţei este similar cu cel descris mai sus.

În translocaţia 21/21 riscul este de 100%. Explicaţia este simplă. Există un singur cromozom metacentric. El poate fi prezent sau absent. Dacă este prezent rezultă un zigot cu trizomie 21; dacă este absent, zigotul monozomic pentru perechea 21 va fi eliminat.

Ca atare, orice cuplu care are un copil cu trizomie 21 trebuie investigat citogenetic.

DIAGNOSTICUL PRENATAL

Investigaţiile genealogice sau clinice permit doar evaluarea riscului de a avea un copil anormal. Certitudinea o aduce doar studiul direct al embrionului. Acest studiu este posibil prin amniocenteză. Lichidul amniotic se obţine prin puncţie transabdominală în săptămîna 14—16-a de sarcină, după localizarea prealabilă a placentei cu ultrasunete. În general, amniocenteza nu implică nici un risc, nici pentru mamă nici pentru făt. Mai multe mari cercetări retrospective şi prospective au demonstrat că după amniocenteză frecvenţa avorturilor spontane nu creşte — 1% faţă de 1,2% în seriile martor din S.U.A. Nu creşte nici incidenţa malformaţiilor congenitale printre copiii născuţi după un diagnostic prenatal. La vîrsta de un an ei sînt la fel de bine dezvoltaţi ca şi copiii născuţi din sarcini nemonitorizate.

Totuşi amniocenteza implică unele riscuri dacă este efectuată de echipe fără experienţă. În Marea Britanie, de pildă, a crescut şi frecvenţa avorturilor spontane (de la 1,4% la 2,7%), şi cea a mortalităţii perinatale (născuţi morţi şi morţi în prima săptămînă de viaţă) (de la 1,2% la 2,3%). În aceeaşi serie a crescut şi incidenţa unor malformaţii congenitale, ca luxaţia congenitală de şold şi piciorul strîmb congenital.

Prin amniocenteză se detectează toate aberaţiile cromozomale şi un mare număr de erori înnăscute de metabolism. Marea majoritate a amniocentezelor urmăresc descoperirea anomaliilor cromozomale — 85% dintre amniocentezele efectuate în S.U.A. (Laback şi col., 1975).

Cercetarea citogenetică este indicată în următoarele circumstanţe:

— după naşterea unui copil citogenetic anormal. De cele mai multe ori este vorba despre un copil cu sindrom Down;

— cînd unul dintre părinţi are o translocaţie echilibrată;

— cînd mama are cel puţin 40 de ani. Este cert că mamele trecute de 40 de ani au un risc considerabil mai mare decît mamele tinere de a naşte un copil cu trizomie 21, cu trizomie 13, cu trizomie 18, cu sindrom Klinefelter sau cu sindrom triplo-X. Riscul începe să crească după vîrsta de 35 de ani. De aceea se recomandă să se monitorizeze toate sarcinile femeilor trecute de 35 de ani;

— după iradierea accidentală a embrionului. Un asemenea accident ar putea să producă numeroase aberaţii cromozomale. Dar nu există nici o dovadă că se întîmplă aşa. Şi chiar dacă se descoperă celule cu variate anomalii cromozomale aceasta nu reflectă structura genetică a embrionilor;

— amniocenteza a mai fost recomandată şi în cazul în care una dintre rudele apropiate are un copil cu sindrom Down, cînd mama a născut un copil cu malformaţii majore, dar nu a fost investigat citogenetic sau cînd mama a avut avorturi spontane multiple. Cercetările efectuate în aceste cazuri au demonstrat că riscul naşterii unui nou copil citogenetic anormal este extrem de mic.

Amniocenteza permite, astfel, eliminarea unui număr relativ important de embrioni anormali, aşa cum rezultă din tabelul 45. Cea mai mare serie publicată pînă acum aparţine lui Boué şi col., 1979.

Din aceste date rezultă că vîrsta înaintată a mamei constituie cea mai importantă indicaţie pentru monitorizarea sarcinii. Concluzia lui Boué este susţinută şi de rezultatele cercetării lui Schmid (1977). El a studiat 480 de mame dintre care 125 aveau mai mult de 40 de ani şi 66 aveau mai mult de 35 de ani. 4,8% dintre sarcinile primelor şi 1,5% dintre sarcinile ultimelor erau citogenetic anormale. Majoritatea feţilor cu anomalii cromozomale aveau o trizomie 21.

Se poate conchide că aproximativ 4—5% dintre sarcinile monitorizate au o aberaţie cromozomală oarecare.

Diagnosticul prenatal se impune şi în cazul în care părinţii sînt heterozigoţi pentru o mutaţie recesivă cu efecte detrimentale în formă homozigotă. De obicei, heterozigoţii sînt identificaţi indirect după ce au un copil cu o eroare de metabolism. Diagnosticul se pune fie direct în celulele obţinute ca atare prin amniocenteză, fie în culturi de celule. Dezvoltarea unei culturi cere cel puţin 14 zile, adesea 3—4 săptămîni. Întreruperea sarcinii, dacă fătul este handicapat genetic, se face deci tîrziu.

Tabelul 45

Indicațiile și rezultatele a 1532 de amniocenteze (după Bové și col., 1979)

Indicații	Nr. feți anormali	Principalele anomalii detectate
Cromozomale:		
Anomalie echilibrată a unuia dintre părinți	8(5,7 %)	anomalii structurale dezechilibrate-7; anomalii numerice asociate-1
Anomalie numerică a unuia dintre părinți	—	
Vîrsta maternă 36—39	1	trizomie 21...13; trizomie 18...3; trizomie 13...1; 47,XXY ...2; altele ...4
Vîrsta maternă >40	23(3,4)	
Mame tinere cu un copil trizomic	-	
Mame cu un copil malformat		
Trizomie 21 în familie	-	
Sarcini patologice, avorturi multiple	3	trizomie 10 în mo[illegible]; D în inel; 69, XXX
Riscuri teratogene		
Erori de metabolism	12	
Anomalii ale tubului neural	4	anomalii structurale dezechilibrate-2; spina bifida-2

Pînă acum se pot diagnostica cîteva zeci de erori în metabolismul lipidelor, mucopolizaharidelor, aminoacizilor, carbohidraților și acizilor nucleici. Numărul lor crește continuu. O parte dintre erorile metabolice detectabile prenatal sînt prezentate în tabelul 46.

Pînă în 1980 se diagnosticau prenatal cel puțin 70 de erori de metabolism — ale metabolismului lipidelor, ale metabolismului carbohidraților, ale metabolismului mucopolizaharidelor, ale metabolismului mucolipidozelor, ale aminoacizilor și ale acizilor organici... Fără îndoială lista acestor tulburări va crește continuu.

În această serie sînt incluse și cîteva tulburări condiționate de mutații recesive situate pe cromozomul X: boala Fabry, sindromul Lesch-Nyhan, sindromul Hunter. În celelalte cazuri, dacă tulburarea este severă, se impune diagnosticul de sex. Dacă embrionul are cariotip 46, XY va fi eliminat. Firește, o asemenea conduită terapeutică antrenează și pierderea

Tabelul 46

Erori metabolice detectabile prenatal

Sindrom	Metode de diagnostic	Frecvență
Acatalasemia	catalaza în culturi de celule amniotice	1/25 000
Tay-Sachs (idioția amaurotică)	hexozaminidaza direct în celulele amniotice	1/500 000
Cistationuria	cistationaza	1/18 000
Galactozemia	galactozo-1-fosfat-transferaza direct în celulele amniotice	1/35 000—1/70 000
Histidinemia	histidaza în culturi de celule amniotice	1/15 000
Hurler	α-L-iduronidaza în culturi de celule amniotice	1/100 000
Leucodistrofia metacromatică	arinilsulfataza direct în celulele amniotice	foarte rar
Niemann-Pick	sfingomielinaza în culturi de celule amniotice	foarte rar

unor embrioni normali, întrucît orice embrion masculin are o șansă de 50% de a fi normal.

Diagnosticul de sex poate fi pus prin studiul cromatinei de sex X în celulele lichidului amniotic sau prin studiul cromozomilor. Cu totul excepțional, dacă nu se poate face amniocenteză, se studiază cromozomii din sîngele periferic al mamei. După săptămîna a 14-a de sarcină are loc un transfer de limfocite fetale. Dacă fătul este 46, XY, în sîngele mamei se va găsi un număr foarte mic de celule cu acest cariotip. Recent a fost descoperită o tehnică de separare a celulelor fetale. Tehnica se bazează pe observația că volumul celulelor fetale este de 1,5 ori mai mare decît cel al celulelor materne.

Cromatina de sex X sau Y poate fi studiată și în celulele prezente în mucusul din colul uterin. Părerile asupra validității metodei sînt însă împărțite.

O serie de malformații pot fi descoperite intrauterin prin cercetarea componentelor lichidului amniotic.

Brock și Sutsliffe (1972) au remarcat că nivelul alfa-fetoproteinei crește în ipoteza în care fătul are o malformație deschisă de tub neural — anencefalie sau spina bifida aperta.

În mod normal, în lichidul amniotic se găsesc cantități mici de alfa-fetoproteine — o glicoproteină produsă după prima lună de viață intrauterină aproape exclusiv de ficat. Este cea mai importantă proteină serică a fătului.

Aceeași proteină este prezentă și în serul femeilor neînsărcinate. În cursul gravidității nivelul proteinei crește continuu ajungînd pînă la 500 ng/ml în a 30-a săptămînă de sarcină. Dacă fătul are una dintre anomaliile menționate mai înainte, cantitatea de alfa-fetoproteine serice depășește semnificativ valorile normale.

Cercetările sistematice au demonstrat că nivelul aceleiași proteine crește și în alte malformații: omfalocel, gastroschizis, defecte deschise ale pielii, sindromul Turner, nefroza congenitală, în obstrucțiile ureterale cu lărgirea accentuată a vezicii, în ascite, precum și în cazul în care fătul este macerat.

Determinările sînt practic întotdeauna concludente. Într-o mare cercetare efectuată în S.U.A. numai 0,15% dintre rezultate au fost fals pozitive.

Dar așa cum am remarcat, nivelul crescut nu este specific pentru o malformație oarecare. De aceea orice modificare a concentrației de alfa-fetoproteine impune determinarea exactă a anomaliei prin ultrasonografie și amniocenteză, dacă proteina a fost determinată în serul matern.

Lichidul amniotic conține și alte substanțe care permit diagnosticul unor malformații. De pildă, în cazul în care fătul are o anomalie deschisă de tub neural, în lichidul amniotic se găsesc celule ale sistemului nervos fetal care au proprietatea de a adera rapid, în 20 de ore, de lamelele din tubul de cultură. În aceleași malformații crește concentrația amniotică de acetilcolinesterază.

Marea majoritate a copiilor cu malformații de tub neural deschis (95%) provin din sarcini fără risc cunoscut. De aceea în regiunile în care malformațiile de tub neural sînt frecvente (Marea Britanie) s-a instituit un program de *screening*. Se determină valoarea alfa-fetoproteinei serice materne în a 16-a — a 18-a săptămînă de sarcină. Rezultatele sînt deosebit de bune: 88% dintre mamele care au un făt cu anencefalie și 79% dintre mamele care au un făt cu spina bifida au un nivel seric semnificativ mai mare decît mamele care vor naște copii normali. Determinările trebuie repetate, deoarece 1/3 dintre mame au temporar valori ridicate de alfafetoproteine. Dacă valorile nu se normalizează fătul va fi examinat ultrasonografic.

Cea mai utilă dintre metodele moderne este ultrasonografia. Ea este indicată într-un număr bine definit de circumstanțe:

— localizarea placentei înainte de amniocenteză;
— creșterea nivelului alfa-fetoproteinei fie în serul matern, fie în lichidul amniotic;
— detectarea unor malformații scheletice și viscerale;
— determinarea numărului de feți;
— evoluția sarcinii.

Prin sonografie se pot descoperi serii de anomalii congenitale. Pe primul plan stau malformațiile sistemului nervos central: anencefalia, hidrocefalia, meningocelul, encefalocelul și spina bifida. Ameliorarea tehnicii permite acum și descoperirea altor malformații: omfalocelul, hernia diafragmatică, displazia renală, agenezia renală. Se pot identifica, de asemenea, și cîteva displazii scheletice condiționate ereditar.

Fătul și placenta pot fi vizualizate direct (fetoscopie) cu ajutorul unui endoamnioscop. Prin vizualizare directă au fost descoperite și pot fi descoperite mai multe sindroame ereditare scheletice. De cele mai multe ori însă sub control

Tabelul 17

Unele caracteristici ale displaziilor scheletic-fetale potențial diagnosticabile prin ultrasunete (după Sabbagha, 1980)

Displazia	Particularitățile membrelor, capului și trunchiului
Acondrogeneză	scurte; crește raportul dintre circumferința capului și a abdomenului
Acondroplazie	crește diametrul biparietal, circumferința abdominală și raportul dintre circumferința capului și a abdomenului; membrele sînt scurte
Nanism campomelic	crește diametrul biparietal, circumferința abdominală și raportul dintre circumferința capului și cea a abdomenului; membre scurte
Nanism diastrofic	membre scurte cu contracturi; necaracteristic
Hipofosfatazie	membre scurte cu fracturi; coaste și vertebre slab vizualizate
Nanism mezomelic Langer	segmentul mijlociu al membrelor scurt-micrognație
Osteogeneză imperfectă (tip I și IV)	curbarea membrelor; necaracteristic
Osteogeneză imperfectă (tip II și III)	membre late și curbate; craniu subțire
Nanism tanatoforic	scurtare proximală a membrelor

direct se obține o mică cantitate de sînge fetal sau un mic fragment de piele. În sînge se diagnostichează β-talasemiile, hemofilia A și anemia cu celule falciforme. În β-talasemii raportul dintre lanțurile globulinice este aproape zero; în hemofilie există o deficiență a activității coagulante a factorului VIII. Anemia cu celule falciforme este diagnosticabilă cu ajutorul metodelor ingineriei genetice, despre care se va vorbi mai departe.

Tot prin studiul sîngelui poate fi diagnosticată prenatal și distrofia musculară Duchenne, o tulburare musculară progresivă, condiționată de o mutație recesivă situată pe cromozomul X. Băieții afectați au o activitate crescută a creatinfosfokinazei. Caracteristica a sugerat supoziția că activitatea enzimatică ar putea fi crescută și la făt. Primele date păreau să confirme presupunerea. Alte observații par să infirme totuși concluziile inițiale (Golbus 1978).

Studiul histologic sau electronomicroscopic al unei biopsii de piele permite diagnosticul unor anomalii dermatologice, printre care și ihtioza congenitală.

Un număr mic de malformații congenitale pot fi descoperite prin examenul radiologic al fătului: anencefalia, hidrocefalia, microcefalia, acondroplazia, anomaliile majore ale scheletului, despicătura palatină. Aceste anomalii pot fi evidențiate abia în ultimul trimestru de sarcină. Valoarea practică a metodei este astfel limitată.

Prin introducerea unei substanțe de contrast în uter se pot cerceta radiologic și părțile moi ale organismului. Amniografia face posibil diagnosticul intrauterin al meningomielocelului. În același timp, deoarece fătul înghite constant și mici cantități de lichid amniotic și odată cu el și de substanța opacifiantă se detectează malformațiile tractului gastro-intestinal.

O serie de tulburări ereditare imposibil sau foarte greu de detectat cu mijloacele actuale vor fi descoperite prin tehnicile ingineriei genetice.

Începutul, 1979, marchează o nouă etapă în istoria profilaxiei tulburărilor ereditare, un început care ar putea revoluționa medicina deceniilor viitoare.

Ya Kan (1979) a demonstrat că heterozigoții și homozigoții pentru Hb S pot fi descoperiți prin cercetarea directă a ADN-ului celulelor din lichidul amniotic. Metoda este însă extrem de complicată.

O enzimă de restricție — Hpa I, extrasă din *Hemophilus influenzae*, scindează ADN-ul în mai multe fragmente de di-

mensiuni diferite, în funcție de structura genei care specifică lanțul beta al hemoglobinei. Dacă gena pentru lanțul beta este normală segmentul secționat este format din 7 000 sau 7 600 de baze. Acest fragment este prezent la 97% dintre indivizii homozigoți normali: Hb A/Hb A. Dacă gena este anormală, segmentul este mult mai mare, fiind constituit din 13 000 de baze. Segmentul apare la 87% dintre heterozigoții sau homozigoții pentru Hb S. În ultimul caz, din motive neclare, unul dintre siturile normale de clivaj dispare și în locul lui apare altul. În aceste fragmente este inclusă și gena pentru lanțul beta al hemoglobinei.

Apoi segmentele sînt separate prin electroforeză și reparate cu ajutorul ADN-ului complementar (cADN) radioactiv (ADN-ul complementar se formează pe o matriță de ARNm; sinteza reclamă prezența unei enzime specifice, și anume transcriptaza inversă).

Homozigoții normali au doar fragmente mici, de 7 000 sau 7 600 de baze; heterozigoții au un fragment mic și unul mare iar homozigoții anormali au două fragmente mari.

Stabilirea unui diagnostic exact presupune determinarea prealabilă a punctelor de clivare ale părinților. Dacă părinții nu au situri specifice de clivare diagnosticul este imposibil. Utilizarea acestei metode impune existența ADNc-ului specific. De aceea este greu de presupus că metoda se va extinde în viitorul apropiat. Ea demonstrează însă potențialul geneticii contemporane.

Boué și col. (1979) cred că o serie de boli ereditare vor fi descoperite indirect prin studiul grupelor de *linkage*. Un exemplu este hiperplazia corticosuprarenalei prin deficit de 21-hidroxilaza. Deficiența enzimei constituie una dintre cele mai frecvente cauze ale pseudohermafroditismului feminin (fig. 92).

Gena care specifică 21-hidroxilaza este situată pe brațele scurte ale cromozomului 6, în apropierea genei HLA-B (din sistemul HLA).

Cercetarea începe cu determinarea sistemului HLA parental, mai exact cu determinarea alelelor parentale HLA-B și eventual HLA-A. Studiul se extinde asupra copilului afectat și asupra copiilor normali — homozigoți normali sau heterozigoți. În acest fel se poate stabili cu ce alele este asociată mutația. După realizarea acestei etape preliminare se face amniocenteza și se determină alelele HLA ale celulelor fetale.

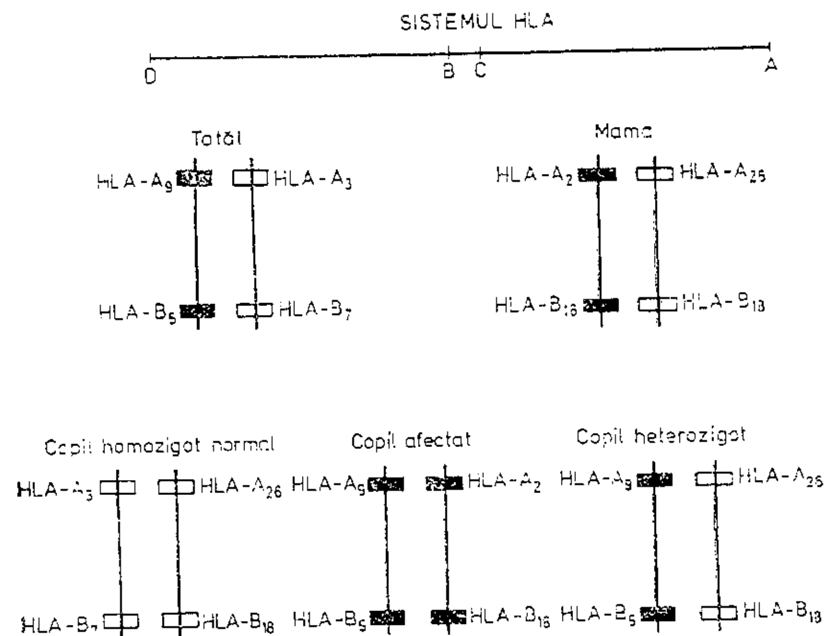


Fig. 92. Determinarea homozigoților normali și anormali, precum și a heterozigoților pentru deficiența 21-hidroxilazei prin cercetarea alelelor HLA-A și HLA-B.

Firește, cu ajutorul aceleiași metode se determină și heterozigoții (numai dacă în familie există un copil afectat).

Pe baza aceluiași principiu se pot detecta alte cîteva tulburări ereditare — în toate cazurile mutația este asociată cu un marker.

Tabelul 18

Detectarea prenatală a tulburărilor ereditare prin studiul unor gene marker strîns legate

Tulburarea	Gena marker
Hemofilia	variante ale G6 PD
Distrofia miotonică	secretor, Lewis
Anemia cu celule falciforme	polimorfism al secvenței de nucleotide detectabile cu ajutorul enzimelor de restricție
Ataxia cerebelo spinală (un tip)	HLA
Hemocromatoza	HLA

Aplicarea unei politici profilactice eficiente și pe termen lung va duce la diminuarea multor tulburări ereditare. Rezultatele sînt condiționate de factori multipli: sociali, economici și genetici. De la început trebuie acceptată ideea că un program de profilaxie genetică reclamă investiții aproape prohibitive. Beneficiile sînt însă considerabile: sute sau mii de copii handicapați care nu vor mai deveni o sarcină socială, care nu vor mai genera drame la limita suportabilității.

Evident, în etapa actuală nu pot fi descoperite prenatal decît o mică parte dintre bolile ereditare, îndeosebi dintre bolile cu transmitere dominantă (reamintim că deseori aceste tulburări sînt condiționate de noi mutații). În viitorul apropiat însă, prin studiul markerilor, se va cerceta un număr mereu mai mare de embrioni cu risc.

Situația bolilor condiționate de mutații recesive este mult mai complexă. Într-o primă fază se vor organiza programe de detectare a heterozigoților. Firește, vor fi studiați numai heterozigoții pentru mutații frecvente — 1—2% (aceasta înseamnă o frecvență a homozigoților anormali de 1/40 000—1/10 000). Este deja un grup numeros și fără îndoială va deveni și mai important, pe măsură ce se vor descoperi noi erori de metabolism și se va preciza frecvența lor.

Devine o necesitate descoperirea prenatală a anomaliilor cromozomale. Dacă ar fi monitorizate toate sarcinile din S.U.A., de pildă, s-ar putea evita nașterea a cel puțin 20 000 de copii anormali în fiecare an. Este practic imposibil. În momentul în care se vor putea separa celulele fetale din sîngele matern — tehnici există — atunci vor putea fi studiate citogenetic toate sarcinile cu risc.

Pînă atunci se monitorizează sarcinile femeilor trecute de 35 de ani. Dar prin această limitare vor fi descoperiți doar 20% dintre embrionii cu trizomie 21. Concluzia a fost generată de o mare cercetare întreprinsă în Copenhaga între 1969 și 1976 (Mikkelsen, 1977) și este greu de spus dacă poate fi generalizată. Procentul copiilor trizomici depinde de vîrsta mamei. În regiunile în care vîrsta mamei este relativ mare este mare și procentul copiilor trizomici. Dacă cercetarea efectuată de Mikkelsen ar fi avut loc cu 10 mai devreme, atunci procentul copiilor anormali ar fi fost semnificativ mai mare — 34%. Între timp însă a scăzut vîrsta mamelor.

Dintre malformațiile condiționate poligenic numai anomaliile de tub neural pot fi detectate cu siguranță prenatal. Dacă s-ar organiza un *screening* care ar cuprinde toate fe-

meile (în regiunile în care malformațiile sînt frecvente) s-ar evita nașterea unui mare număr de copii handicapați. Chamberlain (1978) a calculat că studiul sistematic al celor 600 000 de femei din Anglia și Țara Galilor care au născut în 1975 ar fi împiedicat dezvoltarea și nașterea a 1 100 de produși de concepție: 200 ar fi trăit handicapați, 86 ar fi murit în copilărie și 800 s-ar fi născut morți sau ar fi murit în perioada neo-natală. Din această serie lipsesc sarcinile cu risc mare care au fost investigate.

Amniocenteza nu este numai o metodă relativ inofensivă, ci și sigură. În cele 1 040 de amniocenteze efectuate în mai multe clinici din S.U.A. diagnosticul a fost corect în 99% dintre cazuri.

Dar amniocenteza poate avea și urmări mai puțin așteptate. Două treimi dintre părinții care au aflat că au un făt anormal au dezvoltat tulburări emoționale, la fel ca și părinții cu un copil anormal. În timp aceste tulburări se estompează și dispar.

DETECTAREA POSTNATALĂ A ERORILOR METABOLICE

Succesul terapeutic al bolilor ereditare este condiționat deseori de momentul diagnosticului. Dacă diagnosticul este pus tardiv apar leziuni ireversibile ale sistemului nervos central. Diagnosticul timpuriu este hotărîtor pentru toate tulburările care beneficiază de un tratament eficient: fenilcetonurie, galactozemie, mixedemul, ultimul fiind mult mai frecvent decît se presupunea — frecvența lui este de 1/3 000 de nou-născuți. În tabelul 49 au fost incluse o serie de erori de metabolism tratabile.

Alte tulburări detectabile postnatal nu au încă un tratament adecvat: edemul angioneurotic ereditar sau emfizemul adultului și hepatita infantilă, ambele determinate de o deficiență a α-tripsinei.

Pentru detectarea acestor erori se folosesc, de cele mai multe ori, teste de inhibiție bacteriană. Pentru detectarea fenilcetonuriei este suficientă o picătură de sînge aplicată pe o hîrtie de filtru și uscată. Hîrtia cu picătura de sînge este apoi plasată într-un mediu de cultură care conține *Bacillus subtilis* și β-tienilalanină. Tienilalanina inhibă creșterea bacteriei dacă

Tabelul 49

Tulburări ereditare detectabile la nou-născut

Tulburarea	Substanța test
Fenilcetonurie	fenilalanina
Tirozinemia	tirozina
Homocistinuria	metionina
Histidinemia	histidina
Valinemia	valina
Galactozemia (deficiența transferazei sau kinazei)	galactoza
Galactozemie (deficiența transferazei)	galactozo-uridil-transferaza
Aciduria arginino-succinică	argininosuccinic acid-liaza
Aciduria orotică	orotidin-1-fosfat-decaborxilaza

în sînge nu există fenilalanină. Orice rezultat pozitiv reclamă investigații suplimentare.

PROFILAXIA MALFORMAȚIILOR CONGENITALE COMUNE

Sub acest nume au fost incluse o serie de sindroame malformative sau de malformații izolate, relativ frecvente, condiționate poligenic.

BUZA DE IEPURE ȘI DESPICĂTURA PALATINĂ

0,5—0,7% dintre copiii europeni au o despicătură labio-palatină. Procentul este dublu printre japonezi și cu totul neglijabil printre copiii negri. Buza de iepure și despicătura palatină fac parte dintre puținele malformații congenitale umane a căror frecvență variază de la o populație la alta. În populațiile mici și închise (izolate) frecvența lor poate atinge valori neobișnuit de mari. S-a descris un izolat în care 1% dintre membrii lui aveau una sau ambele malformații.

Ca și alte malformații congenitale umane, cele două anomalii apar preferențial la unul dintre sexe — raportul băieți/fete este în cazul de față 3/2.

Buza de iepure cu sau fără despicătură palatină și despicătura palatină izolată constituie entități genetice distincte. Apariția lor implică un coeficient genetic important. Dovada a adus-o, în primul rînd gemelologia. Concordanța la geme-

nii monozigoți este de 30% față de numai 8% la gemenii dizigoți.

Dar deoarece chiar la monozigoți concordanța este departe de 100% se admite că factorii de mediu intervin și ei în apariția malformațiilor. Rolul eredității este confirmat și de studiile familiale. Concentrarea familială oscilează între 13 și 33%. Uneori malformațiile s-au transmis de la o generație la alta, alteori au apărut doar la mai mulți membri ai aceleiași generații. Deși în cursul anilor s-a susținut că o parte dintre cazurile de buză de iepure cu sau fără despicătură palatină și o parte dintre cazurile de despicătură palatină izolată ar fi condiționate de o singură mutație genică cu mod de transmitere fie dominant autozomal, fie recesiv autozomal, acum se admite că toate cazurile sînt condiționate poligenic.

Despre factorii de mediu se știe puțin. Nu este clar dacă există vreo relație între factorii sezonieri sau vîrsta mamei și apariția malformațiilor.

Este cert însă că despicătura palatină este indusă de mai multe substanțe: cortizon, chlorociclizină, difenilhidantoin și de insecticidul 2, 4, 5, T. Dintre acestea, cel mai cunoscut este cortizonul. Acțiunea lui este condiționată de doza administrată și de susceptibilitatea liniei de animale utilizate.

Despicătura palatină este una dintre puținele malformații a cărei apariție poate fi urmărită cu destul de multă certitudine. Se știe că cele două jumătăți ale palatului se formează în cavitatea comună nazo-orală. Inițial ele au o poziție verticală. Apoi se orizontalizează și fuzionează. Orice factor care întîrzie orizontalizarea duce la apariția despicăturii.

MALFORMAȚIILE DE TUB NEURAL

În această categorie intră două malformații obișnuite: spina bifida chistică și anencefalia.

Cele două malformații sînt deosebit de frecvente în Marea Britanie. Cea mai mare valoare a fost găsită în Irlanda, la Belfast — 4,5‰ anencefalia și 4,4‰ spina bifida. În aceeași populație 1,2‰ dintre nou-născuți au hidrocefalie. Cu alte cuvinte, la fiecare sută de nou-născuți unul prezintă una dintre cele trei malformații (Carter, 1967).

Valori apropiate au mai fost observate doar printre copiii născuți în Alexandria (Egipt): 3,8‰ anencefalie și 2,7‰ spina bifida. Și la Alexandria 2‰ dintre copii au hidrocefalie. În Europa continentală, ca și în celelalte populații albe, incidența este considerabil mai mică. Dealtminteri, și în Marea Britanie frecvența scade de la nord spre sud. La Londra, de exemplu, frecvența anencefaliei este de 1,41‰ iar cea a spinei bifida de 1,54‰ (Carter și Evans, 1973).

Malformațiile de tub neural sînt condiționate multifactorial. Despre rolul mediului se știe puțin. Se pare că vîrsta mamei ar avea un rol oarecare, deoarece un număr mai mare decît cel așteptat teoretic provin din mame foarte tinere, sub 20 de ani, sau din mame trecute de 35 de ani.

Renwick (1972) a emis o ipoteză interesantă asupra originii malformațiilor de tub neural. El presupune că anomaliile ar fi consecința acțiunii unui antibiotic specific (fitoaloxina) produs de cartofii învechiți răniți sau infectați. Printre alte dovezi în sprijinul ipotezei sale figurează și experiențele făcute pe maimuțe. Aceste animale hrănite cu cartofi infectați cu *Phytophthora infestans* înainte și la începutul sarcinii au născut pui cu defecte osoase ale craniului. Ipoteza nu a fost însă acceptată. De aceea ar fi prematur să se susțină că alimentația cu cartofi infectați constituie singura sau cel puțin una dintre cauzele majore ale malformațiilor de tub neural.

MALFORMAȚIILE CARDIACE

Din punct de vedere anatomic malformațiile cardiace formează un grup mare și eterogen. Cele mai frecvente sînt defectele de sept interventricular, defectele septale atriale, persistența ductului arterial, tetralogia lui Fallot și coarctația aortei.

Statisticile publicate în Europa și S.U.A. precum și cele din Japonia demonstrează că 6‰ dintre copii au o malformație cardiacă. Nu se știe însă dacă există sau nu variații geografice importante.

Malformațiile cardiace apar izolat sau fac parte din complexul de tulburări al unor sindroame condiționate fie de o anomalie cromozomală, fie de o mutație genică.

Uneori malformațiile cardiace au o concentrare familială importantă. În general însă, numărul cazurilor familiale este destul de mic.

Se admite că aproximativ un sfert din totalul copiilor cu malformații cardiace au și alte malformații.

Cele mai multe cazuri par condiționate poligenic. Așa se explică faptul că deseori malformațiile cardiace au un caracter sporadic.

Malformațiile cardiace au mai fost observate printre copii ai căror mame au luat talidomidă la începutul sarcinii, precum și printre cei ale căror mame au făcut rubeolă în aceeași perioadă.

LUXAȚIA CONGENITALĂ DE ȘOLD

Luxația congenitală de șold este o afecțiune a articulației coxale. Ea pare să constituie o categorie eterogenă, care include malformații cu origini diverse. Are o frecvență medie de 1/1 500 cu variații geografice importante. Este o anomalie relativ frecventă în unele triburi de amerindieni canadieni și este rară printre eschimoși.

Sex ratio este extrem de mic — 1 : 7.

Se presupune că malformația ar fi condiționată de mai multe gene în condiții favorabile de mediu, mai exact de felul în care copiii sînt îmbrăcați și transportați.

PICIORUL STRÎMB CONGENITAL

Din punct de vedere anatomic se deosebesc trei tipuri, fiecare dintre ele avînd o frecvență de 1‰. S-au descris și populații care malformația apare mult mai des. În Hawaii frecvența este de 6,8‰ pentru cele trei tipuri.

Ca și alte malformații congenitale comune, piciorul strîmb congenital constituie o grupă eterogenă: poate fi o malformație izolată sau se poate asocia cu alte anomalii.

Băieții sînt de două ori mai frecvent afectați decît fetele.

STENOZA PILORICĂ HIPERTROFICĂ

Frecvența malformației variază, se pare, semnificativ de la o mare zonă geografică la alta. Astfel, în S.U.A., în Europa centrală și sudică incidența este de 1—2/1 000. În nordul Europei incidența este de 2—4/1 000. O valoare similară a fost observată și în Marea Britanie (Leck, 1976). Incidențe mai mici au fost semnalate printre copiii din Africa sud-sahariană și din Asia centrală și răsăriteană.

Malformația apare mult mai des printre băieți decît printre fete. Sex-ratio este 4 : 1—5 : 1 în toate populațiile studiate.

S-a observat apoi că cel puțin 50% dintre copiii afectați fac parte din grupa primilor născuți. Există însă și date care pun la îndoială validitatea acestei observații.

Se pare că și această malformație ar fi condiționată poligenic, deși s-a sugerat de mai multe ori că ar fi condiționată de o mutație recesivă autozomală.

Ceea ce este cert este că aceste malformații nu se transmit mendeleen. Așa cum am mai spus, au însă o anumită concentrare familială. De aceea riscul recurenței este mic. În general, nu depășește 5% dacă există un singur copil malformat și dacă părinții sînt normali. După nașterea a doi copii cu aceeași malformație riscul de a avea un nou copil malformat crește pînă la 10%. Iată cîteva date.

După nașterea unui copil cu despicătură palatină, riscul recurenței este de aproximativ 2%. Dacă unul dintre părinți are și el aceeași anomalie riscul ajunge la 17%. În ipoteza în care unul dintre părinți are despicătură palatină riscul de a avea un copil anormal este de 7%. Deseori însă despicătura palatină face parte din sindroame condiționate de o singură mutație genică. În asemenea cazuri riscul recurenței crește considerabil.

La rîndul lor, malformațiile cardiace pot face parte din sindroame mai mult sau mai puțin bine individualizate sau pot apărea izolat. În ultima ipoteză, cea mai frecventă dealtminteri, riscul reapariției este doar de 2—4%. Se poate întîmpla totuși ca și malformațiile cardiace izolate să fie expresia mutației unei singure gene. Se pare că aceste cazuri sînt totuși rare. (În tabelul 50 se prezintă riscul empiric al celor mai importante malformații congenitale comune.)

Descoperirea unei tulburări ereditare impune uneori cercetarea complexă a tuturor rudelor apropiate probandului. Se cunosc numeroase tulburări ereditare cu evoluție lentă, care

Tabelul 50

Riscul empiric pentru malformații care nu se transmit mendeleean
(după Fuhrmann și Vogel, 1976)

Malformația	Incidența printre nou-născuții vii	Incidența malformației sau a unei malformații înrudite		
		frați și surori	copii	veri primari
Anencefalie	0,14	5.0 %		
Spina bifida	0.1 —0.16	5.1 %		
Anencefalie, spina bifida și/sau hidrocefalie	0.29—0.3	1.89 % 4.7 %		
Despicătură palatină izolată	0,02- 0.05	1.8- 2.3 %	7.0 %	[illegible]
— dacă unul dintre părinți este afectat		17.0		
Buză de iepure și despicătură palatină	0,1 - 0.18			
— dacă un copil este afectat		3,5— 4.4 (—8,0)	2,0- 3,5	
— dacă este afectat și unul dintre părinți		14.0		
— după nașterea a doi copii afectați		9.0		
malformații de cord	0.8 %	2—5 %	2- 4 %	
— după nașterea a doi copii afectați		5.5- 8.0 %		
Stenoză pilorică	Riscul recurenței depinde de sexul copilului afectat și de sexul rudei. Dacă probandul este bărbat riscul este [illegible] pentru frații și surorile lui, precum și pentru fiicele lui. Dacă este femeie riscul crește considerabil			
Dislocație de șold	0.3 %	1♂ 11♀	6♂ 17♀	[illegible]
Picior strîmb congenital	0.1 %	2,9.3,1 %		[illegible]

se manifestă clinic tîrziu, dar care pot fi descoperite timpuriu. De pildă, frații și surorile unui bolnav cu polipoză de colon au un risc de 50% de a dezvolta aceeași anomalie. Polipii se malignizează frecvent. Intervenția chirurgicală are astfel o certă valoare profilactică.

În tabelul 51 sînt incluse o parte dintre tulburările adultului care impun cercetarea întregii familii a probandului.

Tabelul 51

Tulburări ereditare condiționate de mutații dominante autozomale cu debut clinic tardiv care impun cercetarea familiilor probanzilor
(după Vogel și Motulski, 1979)

Tulburarea	Metode de diagnostic	Avantajele diagnosticului și tratamentului timpuriu
Hemocromatoza	biopsie de ficat	previne tulburări hepatice, cardiace, pancreatice
Sferocitoza ereditară	testul de fragilitate osmotică	previne anemia și litiaza biliară; previne ruptura splenică
Polipoza ereditară	colonoscopie	previne cancerul de colon
Sindromul Gardner	colonoscopie; examen medical	previne cancerul de colon
Hiperparatiroidism	dozări biochimice	previne complicațiile hipercalcemiei
Adenomatoza endocrină multiplă	dozări biochimice	previne complicațiile hiperparatiroidismului, hipoglicemia, ulcerul peptic
Hipercolesterolemia	colesterolul seric	previne apariția prematură a leziunilor vasculare

CANCERUL

Originea cancerului este neclară. Cu toate acestea, există o serie de neoplazii care par să se transmită dominant și o serie de tulburări ereditare care au un risc de malignizare mare. În aceste cazuri se poate aprecia riscul recurenței sau riscul malignizării.

Retinoblastoma este o tumoră malignă a ochilor care are o frecvență de 1/18 000. Aproximativ 30% dintre afecțiuni sînt ereditare, expresia unei mutații dominante autozomale cu penetranță mare — peste 90%. Ceva mai mult de jumătate dintre purtătorii mutației dezvoltă tumori bilateral. Riscul de a avea copii cu aceeași tumoră este de 50%, sau aproape de 50%, în ipoteza în care:

— unul dintre părinți are retinoblastom bilateral;

— unul dintre părinți are retinoblastom unilateral și în familie mai există încă un caz;

— părinții sînt normali, dar au născut doi copii afectați și o rudă apropiată are același tip de tumoră.

Riscul scade la 5% în ipoteza în care s-a născut un copil cu retinoblastom bilateral sau în cazul în care unul dintre părinți are unilateral aceeași tumoră și la 1% după nașterea unui copil care are retinoblastom unilateral.

Uneori purtătorii mutației dezvoltă tumori în alte țesuturi și organe.

Majoritatea cazurilor au origine incertă.

De cele mai multe ori ereditatea nu condiționează cancerul ca atare, ci o tulburare oarecare care se malignizează. Lista acestor tulburări este destul de mare, dar riscul cancerizării este important doar în cîteva.

Cancerul colonului este relativ frecvent în Statele Unite, Marea Britanie, Irlanda, Canada, Noua Zeelandă... (26—28/100 000) și relativ rar sau rar în Japonia, America de Sud și mai ales în Africa neagră — sub 7/100 000.

Cele două sexe sînt la fel de frecvent afectate. Despre factorii favorizanți se știe puțin. Se presupune că ar apărea mai des în populațiile cu alimentație bogată în grăsimi și săracă în fibre. Este însă sigur că polipozele intestinale se malignizează deseori. Sub acest nume au fost incluse mai multe sindroame bine individualizate clinic, condiționate de mutații dominante și recesive autozomale. Unul dintre ele este sindromul Gardner. În acest sindrom polipii se dezvoltă îndeosebi de-a lungul colonului. Se asociază chiste sebacee și fibroame cutane.

În sindromul Peutz-Jegher polipii, în general benigni, apar de-a lungul întregului tract digestiv și uneori și pe bronhii.

Polipoza de colon generalizată se distinge prin prezența unui număr variabil de polipi: cîțiva sau cîteva sute.

În două dintre aceste sindroame riscul malignizării este foarte mare: în polipoza de colon generalizată și în sindromul Gardner. În sindromul Peutz-Jegher riscul este considerabil mai mic — 5%.

Tumori maligne apar frecvent și în neurofibromatoză (sindromul Recklinghausen), în scleroza tuberoasă, în boala Hippel-Lindau — hemangioblastoame ale retinei și ale sistemului nervos central, precum și în sindroamele de instabilitate cromozomală. Aceste boli sînt rare sau foarte rare. Profilaxia cancerului este în aceste circumstanțe profilaxia tulburărilor ereditare.

Un loc aparte îl ocupă cancerul de sîn. 7% dintre femei vor avea cîndva în cursul vieții lor această formă de cancer. Există însă variații geografice importante, care nu au nici o explicație. După toate probabilitățile, riscul de a face cancer este influențat de fondul ereditar individual. Afirmația este rezultatul unui mare număr de cercetări familiale. S-a stabilit că femeile ale căror mame și surori au avut cancer de sîn bilateral timpuriu, înainte de menopauză — au un risc de 5 ori mai mare decît femeile cu istorie familială negativă. Aceasta înseamnă un risc de 35%. Femeile care au o soră cu cancer de sîn bilateral preclimacteric au un risc de trei ori mai mare decît femeile care nu au nici un caz familial (riscul total este deci de 21%) (Anderson, 1974).

Trebuie subliniat că riscul este mic dacă mama sau surorile au cancer de sîn unilateral preclimacteric.

Firește, nu se știe dacă cancerul de sîn familial este condiționat monogenic sau poligenic.

În celelalte tumori riscul recurenței este necunoscut.

TRATAMENTUL BOLILOR EREDITARE

Corectarea defectului genic constituie tratamentul ideal al bolilor ereditare. Este deocamdată un simplu deziderat care va fi realizat de ingineria genetică. Pînă atunci genetica are la dispoziție alte posibilități, unele dintre ele deosebit de eficiente. Cele mai multe dintre eforturile geneticii medicale au fost consacrate tulburărilor recesive. Reamintim că aceste tulburări sînt expresia unei deficiențe enzimatice care blochează un lanț metabolic specific. Ca atare are loc o acumulare a substratului reacției și o diminuare a produsului final. Manifestările clinice sînt implicit determinate fie de acumularea substratului, fie de lipsa produsului lanțului metabolic, fie și de una și de cealaltă. Tratamentul urmărește deci corectarea defectului enzimatic sau corectarea tulburării induse de deficiența enzimatică.

1. Îndepărtarea substratului. În unele erori înnăscute de metabolism tulburările clinice sînt rezultatul acumulării unei substanțe nemetabolizate. Îndepărtarea substratului împiedică apariția fenomenelor clinice. Astfel, în fenilcetonurie, despre care s-a mai vorbit, instituirea unei alimentații sărace în fenilalanină permite dezvoltarea normală a copilului, cu condiția să fie introdusă în prima lună de viață. Dacă alimentația artificială a fost introdusă mai tîrziu nu mai previne apariția înapoierii mintale.

La fel de eficace este regimul alimentar în galactozemie. Excluderea galactozei din alimentaţie, imediat după naştere, asigură evoluţia normală a copiilor handicapaţi genetic.

2. Suplimentarea alimentară. Există o formă de rahitism care nu răspunde la dozele obişnuite de vitamină D. Anomaliile scheletice se ameliorează însă dacă se administrează doze mari de vitamină.

Aciduria orotică este o eroare de metabolism, o tulburare a sintezei acizilor citidilic şi uridilic, acizi necesari metabolismului normal al pirimidinei. Această boală poate fi tratată eficient cu citozină şi uracil.

3. Terapia de înlocuire. Deseori tulburările clinice sînt consecinţa absenţei produsului final. Cretinismul, de pildă, este determinat de absenţa hormonului tiroidian activ, tiroxina. Administrarea hormonului deficient antrenează o ameliorare substanţială a fenomenelor clinice.

Nanismul hipofizar este condiţionat de o deficienţă a hormonului de creştere. Tratamentul hormonal asigură reluarea creşterii.

Hemofilia este o tulburare a hemostazei determinată de reducerea sintezei factorului antihemofilic plasmatic. Tratamentul cu factorul deficient previne apariţia hemoragiilor spontane sau consecutive traumatismelor minore.

Administrarea enzimelor specifice, deficiente în multe erori înnăscute de metabolism, rămîne în afara posibilităţilor medicinii actuale. Explicaţia este simplă:

— enzimele au o perioadă de activitate scurtă. De aceea ar trebui găsit un sistem de eliberare continuă, în doze adecvate, a enzimei necesare;

— enzimele ar putea fi inactivate de anticorpii organismului receptor.

Pentru eliminarea acestui inconvenient s-ar putea folosi microcapsule în interiorul cărora se găseşte enzima. Enzima nu poate părăsi microcapsula. Dar substratul asupra căruia acţionează, constituit de obicei din molecule mici, ar putea pătrunde în microcapsulă.

Pînă acum terapia cu enzime a fost utilizată doar în deficienţele pseudocolinesterazei. Aşa cum am arătat într-un capitol anterior, indivizii cu diferite variante ale pseudocolinesterazei fac o apnee prelungită după administrarea succinilcolinei (relaxant muscular). Pentru evitarea accidentului se administrează preoperator preparate purificate de pseudocolinesterază.

4. Inhibiţia competitivă. În oxaloză, eroare a metabolismului glicinii, glioxilatul nu se mai transformă în bioxid de carbon şi apă, ci în oxalaţi de calciu care se depun şi formează concreţiuni.

5. Îndepărtarea depozitelor chimice. Boala lui Wilson este o eroare a metabolismului cuprului. Cuprul se acumulează îndeosebi în sistemul nervos central. Depozitele de cupru sînt îndepărtate cu D-penicilamină. Ea formează complexe cu cuprul şi astfel sînt eliminate în urină.

Administrarea enzimei deficiente nu este încă realizabilă, deoarece enzimele sînt distruse în organismul receptor. De aceea Gregoriadis a folosit drept material protector structuri similare membranei celulare, constituite din straturi duble de lipide care alternează cu compartimente apoase. În interiorul lor a inclus enzime. Structurile pătrund în circulaţie şi de acolo în ficat şi splină. S-ar putea ca aceste formaţiuni (lipozomi) să fie utilizate în tratamentul unor erori metabolice.

În unele cazuri s-au folosit infuziile de plasmă de la donori normali. Date preliminare sugerează că enzimele prezente în plasmă sînt active cîtva timp. Metoda a fost folosită în tratamentul polizaharidozelor. După infuzie excreţia mucopolizaharidelor a crescut.

În sindromul Hunter s-a obţinut o ameliorare a tulburărilor clinice prin transplantarea unui fragment de piele urmată de administrarea subcutanată de fibroblaşti (Dean şi Muir, 1975).

O serie de boli ereditare pot fi controlate prin supravegherea atentă a mediului. Albinismul, de pildă, se distinge printr-o diminuare a melaninei — pigmentul celulelor din piele, păr, retină. Bolnavii cu albinism au o sensibilitate deosebită faţă de razele ultraviolete şi nu de puţine ori fac cancere ale pielii. Transformarea malignă poate fi evitată dacă bolnavii nu sînt expuşi soarelui.

O parte dintre malformaţiile congenitale pot fi corectate chirurgical. În această categorie intră malformaţii minore, ca polidactilia sau sindactilia, malformaţii relativ importante, ca buza de iepure şi despicătura palatină, piciorul strîmb congenital şi luxaţia de şold.

Tratamentul chirurgical are uneori un caracter preventiv. Sindromul Gardner, condiţionat de o mutaţie dominantă autozomală, se caracterizează prin dezvoltarea unor tumori osoase, ale părţilor moi şi mai ales prin polipi ai colonului. Polipii se malignizează constant dacă bolnavii trăiesc suficient

de mult timp. De aceea se impune urmărirea atentă a tuturor descendenților bolnavilor cu acest sindrom. În ipoteza în care apar polipi ei vor fi extirpați.

Tot chirurgia realizează și mai ales va realiza transplantele de țesuturi și organe reclamate de genetică. Nu este vorba despre transplantele obișnuite de cord sau de rinichi impuse de existența unor afecțiuni cîștigate, ci despre înlocuirea țesuturilor și organelor deficiente genetic. De pildă, transplantul de măduvă osoasă sau de timus este necesar în deficitele imunologice; transplantul renal în boala Fabry — rezultat al unui deficit în hidroliza lipidelor, urmată de acumularea unor derivați ai ceramidei în rinichi; transplantul de piele în boala Hailey-Hailey (pemfigusul benign familial), boală cu leziuni caracteristice ale pielii.

Firește, chirurgia corectează numeroase malformații congenitale comune: luxația congenitală de șold, buza de iepure, despicătura palatină, unele anomalii cardiace etc.

TRATAMENTUL PRENATAL

În multe boli ereditare diagnosticul se pune tardiv — chiar dacă se pune imediat după naștere, deoarece au apărut leziuni severe și ireversibile, îndeosebi în sistemul nervos central.

La rîndul lui, diagnosticul intrauterin nu oferă decît două soluții: continuarea sarcinii, dacă embrionul este normal, sau întreruperea ei dacă produsul de concepție este anormal. De aceea se impune instituirea unui tratament eficient chiar în cursul vieții intrauterine. Succesele realizate pînă acum sînt însă puține, dar remarcabile prin eficiența lor.

Aciduria metilmalonică este o tulburare gravă condiționată de o mutație recesivă autozomală. Copiii handicapați genetic prezintă tulburări severe, printre care și o înapoiere mintală importantă. Media de viață este mică.

Există mai multe forme de acidurie metilmalonică. Una dintre ele este consecința unui defect în sinteza coenzimei active (coenzimă numită 5′ deoxiadenozilcobalamină) din vitamina B_{12}. În asemenea cazuri s-au administrat mamei mari cantități de vitamină B_{12}. Tratamentul a fost continuat după naștere și rezultatele au fost remarcabile.

Eritroblastoza fetală este o tulburare (anemie mai mult sau mai puțin severă) întîlnită la copiii Rh pozitiv născuți din mame Rh negativ. Dacă tatăl este Rh pozitiv și mama Rh negativ și embrionul Rh pozitiv, în anumite circumstanțe eritrocitele fătului pot pătrunde în circulația maternă și stimula apariția anticorpilor anti-Rh. Apoi anticorpii materni străbat placenta, se fixează pe hematiile fetale și determină o anemie hemolitică, iar în cazuri extreme poate să ducă la moartea fătului.

În familiile incompatibile, primul copil este în general sănătos. El a sensibilizat însă mama față de un antigen pe care nu îl are. Cu fiecare sarcină imunizarea se accentuează. Așa încît tratamentul postnatal este tardiv. De aceea singurul tratament posibil este transfuzia intrauterină. Metoda a fost folosită cu rezultate bune. Ea nu este lipsită însă de riscuri.

Marea speranță a geneticii medicale este ingineria genetică. Foarte probabil în anii următori se vor corecta primele mutații. Începutul a fost dealtminteri făcut. În 1980, Martin Cline a transferat o genă sintetică — gena care codifică unul dintre lanțurile globinei — unei femei cu talasemie. Mai exact, a extras măduvă osoasă și a amestecat-o cu genele specifice multiplicate în *E. coli*. Apoi măduva osoasă a fost reintrodusă în organism. Rezultatele nu se cunosc.

Se presupune că unele tulburări genetice ar putea fi corectate prin complementație. Exemplul teoretic îl oferă gangliozidele: gangliozidoza G_{M2} determinată de o deficiență a determinată de o deficiență a hexozaminidazei A și B (boala hexozaminidazei A (boala Tay-Sachs) și gangliozidoza G_{M1} Sandhoff). În absența enzimelor survine un bloc în metabolismul gangliozidelor urmat de acumularea gangliozidelor G_{M2} în creier. Tabloul clinic este dominat de tulburări neurologice severe. Moartea survine relativ rapid la vîrsta de 2—4 ani.

Cele două boli sînt condiționate de mutații independente. Hexozaminidazele sînt constituite din două subunități, alfa și beta. Prima este codificată de o genă situată pe cromozomul 15; cea de-a doua, de o genă situată pe cromozomul 5. Din fuziunea subunităților rezultă trei tipuri de enzime: A ($\alpha\beta$;) B ($\beta\beta$) și S ($\alpha\alpha$). O mutație a genei (α) duce la apariția bolii Tay-Sachs iar o mutație a genei β la apariția bolii lui Sandhoff.

Dacă s-ar crea un hibrid celular Tay-Sachs/Sandhoff s-ar putea ca cele două subunități să asigure prin complementație o cantitate suficientă de enzimă. Nimeni nu știe însă cum s-ar corecta *in vivo* defectul.

EVOLUȚIONISMUL

Evoluția a fost rezultatul mutațiilor, al proceselor genetice întîmplătoare, al fluxului genic și al selecției naturale.

Mutația înseamnă transformare și ea a constituit cel mai important factor al evoluției. În funcție de nivelul la care a survenit modificarea, mutațiile se împart, tradițional, în: genomice; cromozomale; genice.

CROMOZOMII ȘI EVOLUȚIA

Conform teoriei sintetice a evoluției, teorie care a dominat biologia ultimelor decenii, speciația a fost rezultatul modificării structurii și frecvenței genelor. Citogenetica a demonstrat însă că apariția unei specii implică o restructurare cromozomală mai mult sau mai puțin importantă. Iată cîteva exemple din genetica clasică.

POLIPLOIDIA

Dacă se unesc doi gameți diploizi va rezulta un zigot poliploid, și anume tetraploid — cu patru seturi cromozomale. Tetraploidia poate fi consecința fuzionării a doi gameți din aceeași specie (autotetraploidie) sau a doi gameți din specii diferite (alotetraploidie).

Autotetraploidia este întîlnită destul de rar în populațiile naturale de plante. De aceea se crede că ea a jucat un rol minor în evoluția plantelor, deși cu nu prea mult timp în urmă i se acorda o importanță deosebită.

Plantele autopoliploide au un avantaj selectiv: sînt mai mari și cresc mai lent decît plantele diploide.

Alopoliploidia este destul de des observată în natură, îndeosebi la plante. Se pare că o parte din supraviețuitorii florei de altădată, cum ar fi *Licopodium*, au reușit să se mențină pînă acum datorită poliploidiei.

Poliploidia este rară printre gimnosperme și ceva mai frecventă printre angiosperme. Poliploidia este extrem de rară la animale.

MODIFICĂRI NUMERICE

Numărul de cromozomi al speciilor de mamifere variază în limite foarte mari: între 6 și 92. Cele mai multe mamifere au între 40 și 52 de cromozomi.

O specie are, în general, un număr constant de cromozomi. Deoarece există extrem de multe specii, se întîmplă ca două sau mai multe specii să aibă același număr de cromozomi. Cu toate acestea, cromozomii lor se deosebesc prin formă. Sub raport cromozomal putem spune că o specie este o populație care se deosebește de altă populație prin numărul sau forma cromozomilor. Totuși pentru clasificarea speciilor se folosește mai puțin numărul total de cromozomi și mai mult numărul fundamental, adică numărul de brațe principale. Distincția este deosebit de importantă, deoarece există specii al căror număr de cromozomi este variabil, dar al căror număr fundamental rămîne constant.

Aceste observații sugerează că modificările cromozomale au avut un rol important în evoluție. Vom discuta mai întîi modificările numerice.

Vom începe cu o observație cu valoare generală. Marea majoritate a speciilor au un număr par de cromozomi — este vorba despre cromozomii somatici. La multe specii 2N variază, așa cum remarcam mai sus, între 40 și 56. Nu ar fi exclus ca mamiferele superioare să fi derivat dintr-o specie comună al cărei număr de cromozomi era cuprins între aceste limite. S-a sugerat chiar că această specie îndepărtată avea 48 de cromozomi, atît cît au și marile maimuțe. Din această specie s-au desprins specii cu un număr de cromozomi mai mare sau mai mic decît al speciei inițiale. Ultima posibilitate pare să fi fost mai frecventă, deoarece implică un proces cunoscut — fuzionarea a doi cromozomi. Creșterea numărului presupune ruperea unui cromozom în două, fiecare jumătate

devenind un cromozom adevărat. Această modalitate este greu de explicat.

În momentul în care se trece din domeniul ipotezelor în cel al faptelor situaţia devine mult mai complicată. Dacă este adevărat că modificările numerice au avut un rol major în evoluţie, atunci speciile apropiate morfologic ar trebui să aibă un număr similar de cromozomi. Or, nu este întotdeauna aşa. Există specii relativ asemănătoare al căror număr de cromozomi este diferit. De pildă, în genul *Ellobius* există specii care au 17, 36, 52 şi 54 de cromozomi. Apoi se cunosc familii care cuprind specii cu acelaşi număr de cromozomi. Un exemplu deosebit de concludent îl oferă Felidele. 23 de specii au 38 de cromozomi iar 5 au 36. Deci specii mult deosebite morfologic pot avea acelaşi număr de cromozomi. De aceea s-a spus de numeroase ori că numărul de cromozomi nu poate constitui un criteriu corect de clasificare a speciilor.

Se poate conchide că modificarea numărului de cromozomi a avut un rol mai mult sau mai puţin important în speciaţie.

Este interesant că în unele specii apare un fenomen cu totul particular care se numeşte polimorfism cromozomal. În interiorul unei specii recunoscute ca atare pe criterii morfologice există populaţii izolate geografic — care nu se încrucişează cu alte populaţii ale aceleiaşi specii datorită unor bariere naturale — sau grupe care trăiesc în mijlocul unei populaţii care au alt număr de cromozomi decît cel considerat caracteristic. Rezultatele acestei variabilităţi sînt diferite, uneori ele nu împiedică încrucişarea şi descendenţii sînt fertili, alteori apare o sterilitate completă.

Variaţiile cromozomale nu pot fi întîmplătoare. Ele nu se pot fixa decît în cazul în care oferă purtătorilor un avantaj selectiv, o mai bună adaptare la mediu. Iată o observaţie sugestivă. Cîrtiţele din Orientul Apropiat au multe similitudini morfologice şi pe acest criteriu au fost incluse într-o singură specie. Studiul cromozomilor a relevat un aspect mai puţin aşteptat, şi anume că există patru tipuri citogenetice — un tip cu 52, unul cu 54, unul cu 58 şi unul cu 60 de cromozomi. Distribuţia celor patru tipuri nu pare să fie întîmplătoare. Populaţiile cu 52 de cromozomi şi cu 54 de cromozomi ocupă zonele cu climă mai rece. Pe măsură ce temperatura medie creşte şi clima devine mai aridă creşte şi frecvenţa populaţiilor cu 58 şi 60 de cromozomi, aşa încît în regiunile de semideşert trăiesc doar populaţii cu 60 de cromozomi.

Felul în care numărul de cromozomi favorizează adaptarea este necunoscut.

MODIFICĂRI STRUCTURALE

Despre modificările structurale se ştia puţin în evoluţionismul clasic. Se ştia că sînt frecvente la *Drosophila* şi că asigură un avantaj selectiv. Dobzhansky a studiat frecvenţa şi distribuţia geografică a două dintre cele mai cunoscute inversii prezente la *Drosophila* — Arrowhead (AR) şi Chiricahua (CH) —, după numele localităţilor unde au fost descoperite. Tipul obişnuit — Standard — a fost întîlnit îndeosebi în regiunile joase ale munţilor Sierra Nevada. Tipul AR a fost găsit în special în zonele înalte ale aceloraşi munţi. Ultimul tip, CH, a fost întîlnit pretutindeni.

Dobzhansky a studiat apoi, în condiţii experimentale, frecvenţa translocaţiilor în funcţie de temperatura ambiantă. El a plecat de la premisa că o translocaţie va fi mai frecventă în mediul în care asigură purtătorilor un avantaj selectiv. Şi a remarcat că tipul Standard apare mai des, indiferent de distribuţia geografică, în perioadele calde, în timp ce tipul CH apare mai frecvent în mediile cu temperatură mai coborîtă.

Se bănuia apoi că duplicaţiile ar fi facilitat şi ele o mai bună adaptare la mediu.

Cercetările de citogenetică modernă au demonstrat că restructurările cromozomale au constituit cel mai important factor al speciaţiei.

CROMOZOMII ŞI EVOLUŢIA HOMINIDELOR

Linia hominidelor, singura care ne interesează în acest context, s-a desprins din trunchiul comun în urmă cu 20—25 de milioane de ani. Arborele filogenetic al speciei *Homo sapiens* este prezentat în fig. 93.

După alte păreri însă, linia *Homo* este mult mai tînără, ea nu ar avea decît 15 milioane de ani. Aceasta este şi opinia lui Seuárez (1979).

Într-un număr extrem de mic de generaţii (1×10^6 — în spiritul ultimei ipoteze), o maimuţă primitivă a devenit *Homo sapiens*. Un milion de generaţii pare suficient (un milion de

Ordin	Subordin	Infraordin	Suprafamilie	Familie	Subfamilie	Gen	Număr de specii
PRIMATE	PROSIMIENI	TUPAIFORME					
		LORISIFORME					
		LEMURIFORME					
		TARSIIFORME					
	ANTROPOIDEA	PLATIRINE		CEBIDE	AOTINE	*Aotus*	1
					PITECINE	*Pithecia*	2
					ALOUATTINE	*Alouatta*	5
					CEBINE	*Cebus*	4
					ATELINE	*Ateles*	4
		CATARINE	CERCOPITHECOIDEA	CERCOPITECIDE	PAPIINAE	*Macaca*	13
						Cercocebus	5
						Papio	7
						Theropithecus	1
					CERCOPITECINE	*Cercopithecus*	22
				COLOBIDE	COLOBINE	*Simias*	1
						Nasalis	1
						Colobus	5
			?	HILOBATIDE		*Hylobates*	6
						Symphalangus	1
			HOMINOIDEA	PONGIDE		*Pongo*	*Pongo pygmaeus*
						Pan	*Pan troglodytes*
							Pan paniscus
				HOMINIDE		*Gorilla*	*Gorilla gorilla*
						Homo	*Homo sapiens*

Fig. 93. Filogenia primatelor (după Chiarelli, 1971).

generații dacă se admite că omul contemporan și ascendenții lui deveneau puberi la 15 ani). Pare suficient dacă se pleacă de la premisa că în fiecare generație au apărut și s-au fixat numeroase mutații. Pentru a explica mai bine acest proces, Seuárez (1979) a calculat numărul diviziunilor celulelor germinale pe generație. În gonadele unui băiat puber există 6×10^8 spermatogonii care derivă din aproximativ 30 de diviziuni celulare (ale celulelor germinale primordiale). Formarea spermatozoidului reclamă alte două diviziuni. În total 36 de diviziuni pe generație.

La femeie situația este diferită. Un făt de 5 luni are aproximativ 7×10^6 oocite, rezultate din 21 de diviziuni ale celulelor germinale primordiale. Pentru formarea unui ovul mai sînt necesare încă 2 diviziuni. În total deci 23 de diviziuni.

În cursul unui milion de generații au avut loc 36×10^6 diviziuni ale celulelor germinale masculine și 23×10^6 diviziuni ale celulelor germinale feminine.

Ritmul evoluției a fost foarte rapid. Ceea ce înseamnă că presiunea de mutație a fost considerabilă. Pentru a ilustra viteza transformărilor morfologice, Seuárez reamintea că în ultimele 300 000 de generații (din momentul apariției australopitecilor pînă acum) volumul craniului s-a triplat. În acest timp au avut loc numai 11×10^6 diviziuni celulare masculine și 7×10^6 diviziuni germinale feminine.

Este sigur că linia *Homo* s-a individualizat în momentul în care s-a format prima grupă de maimuțe cu 46 de cromozomi.

Toate primatele, cu excepția omului, au 48 de cromozomi. Același număr trebuie să-l fi avut și specia din care s-au desprins liniile care au dus la formarea hominidelor și a marilor maimuțe.

Este cert așa, deoarece cromozomii celor patru specii de primate prezintă numeroase similitudini. Diferențele sînt relativ mici. Iată după J. de Grouchy (1975) deosebirile dintre om și cimpanzeu:

Prima pereche se deosebește doar prin prezența unei constricții secundare submetacentrice la om. Absența ei la cimpanzeu, ca și la celelalte maimuțe antropomorfe de altminteri, sugerează presupunerea că ea a apărut în cursul evoluției hominidelor. Perechea următoare, A_2, nu are omolog la cimpanzeu. Dacă se studiază secvența benzilor se constată că A_2 uman a rezultat din fuziunea a doi acrocentrici, păstrați ca atare la cimpanzeu. În acest fel s-a redus și numărul

total de cromozomi. Perechea următoare, A_3, este asemănătoare la ambele specii. Cromozomii din perechea 4 au suferit o mică remaniere — o mică inversiune pericentrică. O remaniere similară a avut loc și în perechea 5. În grupa C, patru perechi — 7, 8, 10 și 11 — nu prezintă nici o modificare aparentă. Cromozomul 9 a suferit însă două restructurări: o inversiune pericentrică și o mică deleție, iar cromozomul 12 o inversiune pericentrică. Dintre ceilalți cromozomi numai doi, 17 și 18, au suferit și ei inversiuni pericentrice.

Studiul citogenetic comparativ al omului și al cimpanzeului ca și cel al gorilei și al cimpanzeului a demonstrat că aceste specii se deosebesc una de alta, la nivel cromozomal, printr-un număr redus de remanieri — fie inversii pericentrice, fie prin restructurări ceva mai complexe, nu întotdeauna identificabile cu tehnicile actuale.

Pornind de la aceste observații, Grouchy (1978) a încercat să reconstituie cariotipul speciei ancestrale. Tentativa are un caracter provizoriu.

Tabelul 52

Compararea diferențelor structurale între cariotipul uman și cariotipul marilor maimuțe (după Dutrillaux, 1975)

Specii comparate	Inversii pericentrice	Inversii paracentrice	Fuziuni telomerice	Alte rearanjamente
Homo sapiens-Pan troglodytes	6	0	1	
H. sapiens-Pan paniscus	6	(1)	1	
H. sapiens-Gorilla gorilla	8	2	1	1 translocație
H. sapiens-Pongo pygmaeus	7	3	1	modificare complexă
P. paniscus-P. troglodytes	0	(1)	0	
P. paniscus-G. gorilla	6	2(+1)	0	1 translocație
P. paniscus-Pongo pygmaeus	9	3(+1)	0	1 modificare complexă
P. troglodytes-G. gorilla	6	2	0	1 translocație
P. troglodytes-P. pygmaeus	9	3	0	1 modificare complexă
G. gorilla-P. pygmaeus	10	3	0	1 modificare complexă 1 translocație

Cîțiva cromozomi par să fi rămas neschimbați, deoarece au aceeași formă și aceeași succesiune de benzi la cele patru specii studiate. Aceștia sînt cromozomii din perechile 6, 19, 21 și X. Dacă presupunerea este corectă, atunci numeroase gene trebuie să se găsească pe aceiași cromozomi în toate primatele. Este sigur că gonozomul X nu a suferit nici un fel de remanieri evidente în întreaga istorie a primatelor, deoarece la pongide și la om pe acest cromozom se găsesc aceiași loci: G6 PD, PGK, α-Gal, HGPRT.

Așa cum era de așteptat, numeroase gene au aceeași localizare și la antropoide și la om. Cîteva exemple vor ilustra afirmația.

Pe brațul scurt al cromozomului 1 la om, la cimpanzeu, la gorilă și orangutan se găsesc locii pentru: Eno-1, PGD și PGM-1. Pe brațul lung al aceluiași cromozom sînt locii pentru Pep-C la cele patru specii.

Pe brațul lung al cromozomului 2 sînt locii pentru IDH-1 iar pe brațul scurt, locii pentru MDH-1.

Pe cromozomul 11 sînt locii pentru LDH-A iar pe cromozomul 12 locii pentru LDH-B.

Un ultim exemplu. În funcție de proprietățile de sedimentare și de dimensiuni există trei tipuri de gene pentru ARN-ul ribozomal-5 S, 18 S și 28 S. Fiecare dintre aceste gene este prezentă în numeroase còpii. Genele 5 S sînt situate la extremitatea terminală a brațului lung al cromozomului 1 uman. La marile maimuțe aceleași gene sînt localizate în aceeași regiune în care se găsesc și genele umane — ținînd seama de faptul că brațul lung al cromozomului 1 uman este omolog cu brațul scurt al cromozomului 1 al marilor maimuțe.

Genele 18 S și 28 S sînt situate la om în regiunea constricției secundare a cromozomilor acrocentrici — 13, 14, 15, 21, 22 — în regiuni asociate cu nucleolul și cunoscute de aceea sub numele de regiunile organizatorilor nucleolari. La cimpanzeu aceleași gene sînt situate tot pe 5 cromozomi — 14, 15, 17, 22, 23. Există între cele două specii și diferențe importante. Astfel, cromozomul 16 al cimpanzeului care este omologul cromozomului 15 uman nu are o regiune a organizatorului nucleolar și ca atare nici genele specifice. Apoi aceleași gene sînt prezente în cromozomul 17 al cimpanzeului și lipsesc în cromozomul 18 uman — omologul cromozomului 17 de la cimpanzeu.

Între om, pe de o parte, și gorilă și orangutan, pe de altă parte, există diferențe mult mai importante. La gorilă, de

pildă, aceleaşi gene sînt localizate doar în doi cromozomi — 22 şi 23 — iar la orangutan în toţi cromozomii acrocentrici.

Rămîne de explicat mecanismul reducerii numărului de cromozomi.

Fuziunea între doi acrocentrici este întîlnită relativ frecvent şi în populaţiile umane contemporane: frecvenţa translocaţiei D_qD_q (între braţele lungi ale cromozomilor din grupa D) este de $0{,}72 \cdot 10^{-3}$, iar a translocaţiei D_qG_q (între braţele lungi ale unui cromozom din grupa D şi braţele lungi ale unui cromozom din grupa G) este de $0{,}22 \cdot 10^{-3}$. Translocaţiile G_qG_q (între braţele lungi ale cromozomilor din grupa G) sînt excepţional de rare. De aceea fixarea translocaţiei este un fenomen extrem de rar. El poate avea loc doar în două împrejurări: — în interiorul unui grup restrîns a apărut un individ cu o translocaţie robertsoniană şi el a transmis remanierea unora dintre descendenţii lui. În timp, datorită uniunilor care au loc în cadrul micului grup, pot apărea homozigoţi. Este o eventualitate aproape improbabilă. Dar, fireşte, nu este cu totul exclus ca acest mecanism să explice fixarea remanierii cromozomale.

Conform teoriei lui Lejeune (1968), specia *Homo* a început cu un singur cuplu. Unul dintre membrii cuplului avea translocaţia specifică. Prin fecundare s-a format un zigot 46,XY. Apoi, în cursul diviziunii — a primei diviziuni —, a avut loc o separare a celulelor prin acelaşi mecanism prin care se formează şi gemenii monozigoţi obişnuiţi.

În acest moment a survenit un nou accident — necesar: una dintre celulele fiice a pierdut un cromozom Y. Se nasc astfel gemeni monozigoţi cu structuri genetice deosebite: unul XY şi unul X. Aceşti gemeni se numesc gemeni heterocarion, deoarece au cariotipuri diferite. Dacă ultimul este fertil şi dacă gemenii se încrucişează, rezultă descendenţi homozigoţi. Explicaţia este greu de admis, deoarece la om femeile 45,X (XO) sînt sterile (au disgenezie gonadală). Excepţiile sînt cu totul neglijabile şi atunci nu poate fi eliminată existenţa unui mozaic X/XX.

De aceea de Grouchy a avansat o altă ipoteză, bazată şi ea pe existenţa cuplului unic (fig. 94). Se porneşte de la premisa că ovulul şi cel de-al doilea globul polar au fost fecundate de spermatozoizi diferiţi, unul X şi unul Y. Deoarece atît ovulul, cît şi al doilea globul polar erau purtătorii remanierii cromozomale se nasc doi copii de sex diferit, dar cu aceeaşi modificare cromozomală. Fixarea translocaţiei

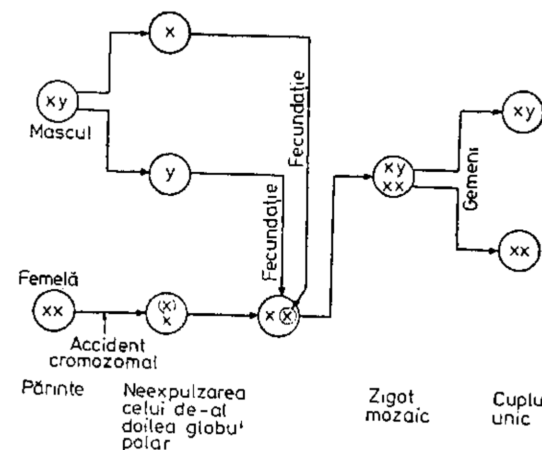


Fig. 94. Modelul lui J. de Grouchy de reducere a numărului de cromozomi.

impune incestul. Un asemenea eveniment nu pare să fi fost extrem de rar în mica grupă de maimuţe primitive. Dealtminteri, exemple similare au fost raportate şi în patologia umană contemporană. Betz şi col. (1974) au descris o femeie homozigotă pentru o inversie pericentrică a cromozomului 3. Ea provenea dintr-un incest între bunicul şi mama ei. În aceeaşi familie existau mai mulţi indivizi cu aceeaşi inversie în formă heterozigotă.

Exemplul următor ilustrează la fel de convingător importanţa remanierilor cromozomale în speciaţie. Roubin şi col. (1973) au studiat cariotipul mai multor specii de felide: *Panthera leo* (leul); *Panthera tigris* (tigrul) din genul *Panthera; Felis cattus* (pisica domestică) şi *Felis concolor* (puma) din genul *Felis; Acinonyx jubatus* (ghepardul), ultimul cercetat constituie o grupă aparte (fig. 95).

Roubin a remarcat că numărul cromozomilor celor 5 specii variază între 36 şi 38. În ciuda acestor variaţii diferenţele structurale par minime. Astfel, între *P. leo* şi *P. tigris* nu se observă nici o deosebire. Ambele diferă de *Felis cattus* prin prezenţa unei inversii pericentrice pe cromozomul 6.

Între *F. cattus* şi *F. concolor* există de asemenea o singură diferenţă, o inversiune pericentrică pe un cromozom din grupa D. Ghepardul se distinge prin două remanieri.

Se poate deduce din datele prezentate mai sus că remanierile — fuziunile, inversiile pericentrice, inversiile paracen-

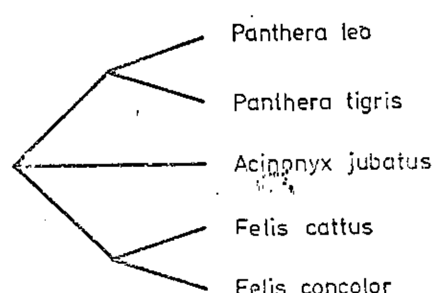


Fig. 95. Arborele filogenetic al felidelor studiate de Roubin (1973).

trice și fuziunile — au fost suficiente pentru a izola reproductiv două populații.

DUPLICAȚIA

Remanierea cromozomală constituie doar un început. Diferențierea populațiilor izolate reproductiv reclamă intervenția altor factori genetici. Probabil cel mai important dintre ei este duplicația genelor. Exemplul cel mai pregnant este evoluția hemoglobinei (despre structura ei s-a vorbit în capitolul consacrat mutațiilor).

Dacă se studiază secvența aminoacizilor lanțurilor principale α, β, γ și δ, se constată că ele prezintă o remarcabilă similitudine. Pentru a explica acest fenomen se poate presupune că genele care condiționează sinteza celor patru lanțuri derivă dintr-o genă ancestrală comună, prin duplicații succesive urmate de evoluția independentă a fiecăreia dintre gene.

Prima genă formată a fost gena care specifică mioglobina, o proteină hemică constituită din 153 de aminoacizi. Ea are funcția de a transfera oxigenul în mușchi. Structural seamănă cu hemoglobina.

Printr-o nouă duplicație s-a format lanțul α. Presupunerea pornește de la faptul că lanțul are numai 141 de aminoacizi și de la observația că există mai puține corespondențe între lanțul α și celelalte lanțuri ale hemoglobinei.

Ultimele formate sînt lanțurile β și δ, deoarece ele se deosebesc doar prin 10 aminoacizi (fig. 96).

Un argument suplimentar în sprijinul acestei teorii îl aduce și observația că locii pentru genele respective sînt situați foarte aproape unul de altul, pe același cromozom.

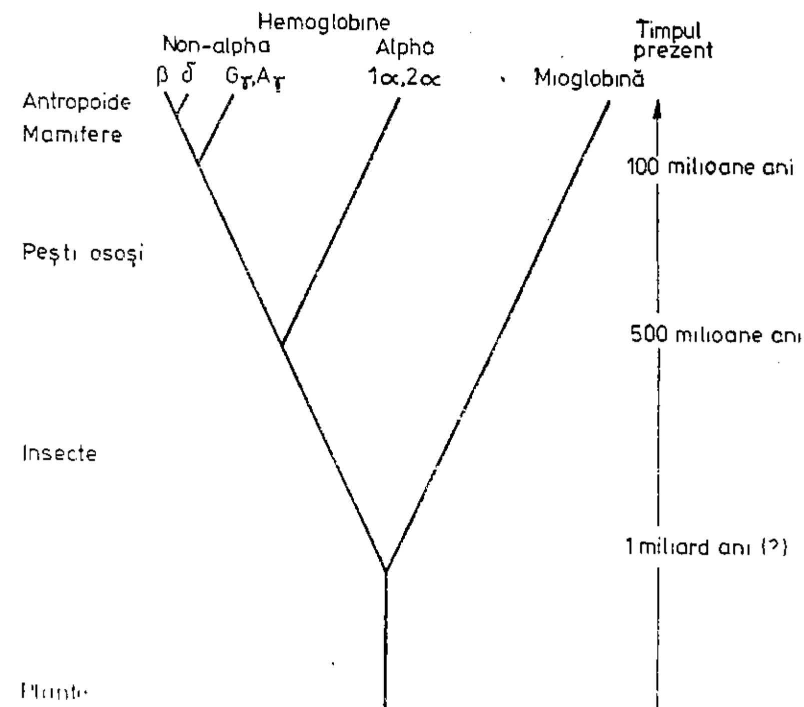


Fig. 96. Evoluția genelor pentru globinele umane (după Dayhoff și colab., 1972).

De curînd s-a demonstrat că există două lanțuri γ. Ele se deosebesc printr-un singur aminoacid. În primul tip $^{G}\gamma$ în poziția 136 se găsește glicină iar în celălalt tip $^{A}\gamma$ aceeași poziție este ocupată de alanină. După toate probabilitățile, cele două variante sînt controlate de loci distincți, formați printr-o duplicație foarte recentă.

Duplicația genică este consecința unui *crossing-over* inegal. Apoi, în timp, au apărut modificări ale secvenței aminoacizilor lanțurilor hemoglobinei.

Analizînd datele cunoscute, Labie (1975) stabilea etapele importante ale evoluției globinei:

— duplicarea genei ancestrale a avut loc înainte de divergența lampretelor;

— duplicația lanțurilor α a avut loc odată cu divergența crapului;

— duplicația β/γ este tardivă, contemporană cu divergența reptilelor și a mamiferelor;

— în filogenia euterienelor au survenit mai multe duplicații independente ale lanțurilor β;

— lanțul δ este prezent numai la primatele superioare;

— cele mai noi sînt duplicațiile γ și δ.

Numeroase alte proteine s-au format prin același mecanism. Iată numai cîteva exemple (după Dayhoff și Barker, 1972).

Tabelul 53

Studiul comparativ al secvenței aminoacizilor într-o serie de proteine

Proteina	Diferența la % în secvențe de aminoacizi
Hemoglobină—mioglobină	77
Hormon de creștere—prolactină	77
Tripsină—trombină	65
Lactalbumină—lizozim	63
Glucagon—secretină	52
Chemotripsina A și B	21
Lanțurile E și S ale alcool dehidrogenazei	1,7

Duplicația a constituit un factor evolutiv major, deoarece noua genă fiind redundantă poate suferi numeroase mutații fără să afecteze potențialul biologic al purtătorului. Dacă mutația este avantajoasă se fixează, devenind astfel o genă independentă.

MUTAȚIILE GENICE

Rolul mutațiilor genice în accepția strictă a termenului, mutații care antrenează în mod obișnuit substituirea unui singur aminoacid în lanțul polipeptidic final, a constituit și constituie una dintre cele mai dezbătute teme ale evoluționismului.

Observații mai vechi sugerau că rata de mutație, pe locus și pe generație, ar fi de 10^{-5}. Concluzia se baza pe cercetarea modificărilor morfologice evidente, de cele mai multe ori anormale. În acest fel însă, marea majoritate a mutațiilor genice fără efecte fenotipice evidente rămîneau nedetectate. Se presupunea, oricum, că rata de mutație trebuie să fie considerabil mai mare. Se pleca de la premisa că fiecare genă poate suferi un număr variabil de mutații. De pildă, dintr-o genă oarecare formată din 600 de baze, care codifică astfel un lanț polipeptidic format din 200 de aminoacizi, pot rezulta 18 000 de alele, deoarece orice bază poate fi înlocuită cu oricare altă bază care intră în constituția ADN-ului. Consecințele funcționale ale acestor mutații sînt însă extrem de variate. Într-un număr mic de cazuri, 3—6%, se va forma o proteină mai scurtă, fără activitate specifică. 20—25% dintre mutații vor fi sinonime, adică vor specifica aceeași proteină, deoarece un codon a fost înlocuit cu alt codon care specifică același aminoacid. Restul mutațiilor, de 70—75%, vor altera structura produsului final și în funcție de aminoacidul înlocuit și de locul unde s-a produs substituirea și funcția proteinei (Harris, 1975).

Ca atare, numărul teoretic posibil de mutații este imens. S-a calculat că la om ar putea exista, dacă fiecare nucleotid ar suferi o mutație, 4^{1000} alele. Dar numai un procent oarecare, în orice caz mult mai mic decît procentul teoretic posibil de mutații, va fi descoperit în cadrul cercetărilor de rutină, deoarece numeroase mutații antrenează moartea purtătorilor în primele stadii ale dezvoltării intrauterine.

Rata de mutație nu a fost încă stabilită cu certitudine. Kimura și Ohta (1973) au încercat să precizeze rata de mutație a genelor care controlează sinteza lanțurilor α și β ale hemoglobinei. Pentru aceasta au folosit datele lui Yanase și col. (1968). Într-o serie formată din 320 000 de indivizi, ei au descoperit 62 cu o variantă electroforetică oarecare. Deoarece numai o treime dintre variantele hemoglobinei pot fi detectate electroforetic, s-a ajuns la concluzia că frecvența hemoglobinelor anormale ar fi de 3×10^{-4}. Dintre ele numai cîteva sînt noi mutații. Astfel, s-a conchis că rata de mutație pentru genele care controlează lanțurile α și β ar fi de $3{,}3 \times 10^{-5}$, rata de mutație pe codon ar fi 10^{-7}, iar cea de mutație pe nucleotid, de $4{,}4 \times 10^{-8}$ pe generație.

Este sigur însă, conform observațiilor făcute atît la om, cît și la drosofilă, că pe aproximativ 30% dintre loci există două sau mai multe variante și că astfel fiecare individ este heterozigot pentru 10—15% dintre loci (fig. 97).

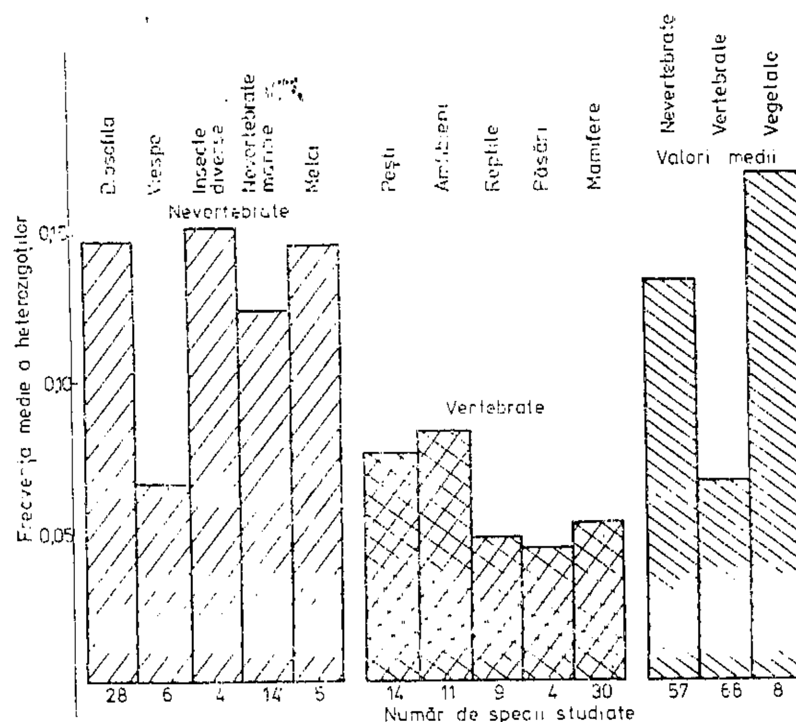


Fig. 97. Variaţia genetică a populaţiei naturale (după Ayala, 1977).

Dovada o aduce existenţa numeroaselor variante de hemoglobină, de glucozo-6-fosfat-dehidrogenază, de albumine serice, de fosfohexozo-izomerază, de peptidază A şi B.

Frecvenţa alelelor este inegală. Dintre hemoglobinopatii numai patru sînt frecvente: S, C, D şi E. Restul sînt rare. Fenomenul pare să fie general sau, oricum, larg răspîndit. Unul sau două fenotipuri sînt frecvente, unul sau două ating procente mici şi celelalte sînt rare.

Frecvenţa celor mai comune alele diferă de la o populaţie la alta, aşa cum se vede din tabelul 54.

Nu se ştie cînd au apărut mutaţiile. După toate probabilităţile, unele mutaţii sînt recente, deoarece au o distribuţie limitată. De pildă, grupa eritrocitară Diego este întîlnită numai în populaţiile mongole, iar grupa eritrocitară Sutter, numai printre negri. Mutaţia c din sistemul Rhesus este pre-

Tabelul 54

Frecvenţa celor mai comune alele la europeni şi la negri
(după Lewis, 1971)

Enzima	Europeni	Negri
Fosfataza acidă eritrocitară	0,6—0,7	0,8
6-fosfogluconat-dehidrogenaza	0,96	0,72—0,87
Fosfoglucomutaza		
PGM_1	0,76	0,76—0,79
PGM_2	1	0,95—0,99
PGM_3	0,74	0,66
Peptidaza A	1	0,70—0,90
Peptidaza D	0,97	0,92
Adenozin-deaminaza	0,90	0,90
Adenilat-kinaza	0,95	0,99

zentă la mongoli şi la negri şi lipseşte la europeni sau la populaţiile de origine europeană. Ultimii se disting prin prezenţa grupei serice Gm.

În toate populaţiile studiate pînă acum s-a remarcat că unele alele apar relativ frecvent, iar altele relativ rar. O alelă care are o frecvenţă mai mare de 0,01 este considerată comună, iar una cu o frecvenţă mai mică, rară. În sens larg, existenţa într-o populaţie oarecare a două sau mai multe alele, ale unui locus dat, se numeşte polimorfism. În sens strict, după Ford (1965), prin polimorfism se înţelege prezenţa într-o populaţie oarecare a două caractere (gene) într-o asemenea frecvenţă, încît cea mai rară nu poate fi menţinută numai prin mutaţii recurente. Tot Ford susţinea că un caracter monofactorial poate fi polimorfic chiar dacă se găseşte doar la 1% dintre indivizii unei mari populaţii. S-a afirmat însă că şi o genă a cărei frecvenţă depăşeşte 0,1% poate fi considerată polimorfică.

Există două forme de polimorfism: echilibrat şi tranzient. Un polimorfism este echilibrat în cazul în care raportul dintre două sau mai multe gene rămîne constant de-a lungul unui mare număr de generaţii. În cazul în care cele două gene rămîn în echilibru un timp oarecare şi apoi una dispare, polimorfismul este tranzient. Uneori este imposibil de spus dacă un polimorfism oarecare este echilibrat sau tranzient, deoarece nu se ştie ce s-a întîmplat în secolele şi mileniile trecute şi nici ce forţe selective au participat la apariţia şi menţinerea lor.

Se cunosc numeroase caractere polimorfice şi numărul lor creşte mereu: hemoglobine, grupe sangvine, enzime: glucozo-6-

asiatici au trecut strîmtoarea Behring în urmă cu 75 000 de ani. Oricum, după aceea au trăit în grupe mici și izolate. Deoarece au origine asiatică, ei trebuie să fi avut aceeași frecvență a grupelor sangvine pe care au avut-o și asiaticii din paleoliticul superior și pe care o au și descendenții lor contemporani. În populațiile amerindiene actuale există însă o surprinzătoare variabilitate: unele grupe nu au gena B, iar în unele triburi din America de Sud frecvența genei 0 se apropie de 100%. Variațiile sînt, se pare, o reflectare a proceselor genetice întîmplătoare, deși absența grupelor A și B în America de Sud ar putea fi și consecința acțiunii selecției naturale.

Iată un alt exemplu reamintit de Mayr (1963). Steinberg a studiat huteriții, o sectă religioasă elvețiană care a emigrat în jurul anului 1880 în S.U.A. și în Canada. Studiul grupelor sangvine a scos în relief cîteva fapte importante. Astfel, frecvența grupei A (43%) era mai mare decît a grupelor europene și americane (30—40%); frecvența grupei 0 (29%) era mai mică decît cea a seriilor martor iar cea a grupei B, foarte mică; în două colonii lipsește. S-a remarcat apoi că frecvența grupelor sangvine varia de la o colonie la alta-gena A oscila între 32% și 52% iar grupa sangvină Kell, a cărei frecvență nu depășește 6% în populațiile de origine europeană, ajungea la 21,2%, în șase colonii.

Unul dintre factorii care modifică semnificativ frecvența genelor este fecunditatea preferențială. Din rațiuni diverse, medicale sau sociale, adulții unei populații au un număr diferit de copii. În acest fel participă diferit la constituirea rezervorului genetic al generației următoare. K. Pearson, studiind, la începutul acestui secol, populația daneză a remarcat că 25% dintre familii nasc 50% dintre copiii generației următoare; urmașii acestei generații reprezintă 78% din totalul generației următoare și 98% din totalul celei de a treia generații. Este evident că fenomenul este deosebit de intens în populațiile mici și închise și că el singur poate explica pierderea sau fixarea unor gene (Ferembach, 1978).

EFECTUL FONDATORULUI

Efectul fondatorului constituie un aspect particular al derivei genetice. Din motive multiple, de cele mai multe ori economice, o populație se scindează. Un grup de dimensiuni variabile pleacă și formează o nouă comunitate. Fondatorii, de aici și numele de efectul fondatorului, poartă numai o parte nereprezentativă din diversitatea genetică a populației din care s-au desprins. Implicit frecvența unora dintre alelele lor va fi diferită de cea a populației originare. Prin jocul întîmplării, una dintre alele poate să dispară iar cealaltă să se fixeze. Dacă unul dintre fondatori este purtătorul unei mutații recesive în formă heterozigotă (mutație detrimentală în formă homozigotă) și dacă grupul rămîne închis, în cîteva generații apar primii homozigoți și implicit și primii afectați.

A. Chaventré a studiat un trib de tuaregi, Kel Kummer, din Mali, desprins în secolul al XVII-lea dintr-o populație mai mare, Kari Denna. Reconstituind întreaga genealogie a acestui trib de tuaregi, Chaventré a conchis că toți membrii tribului au cel puțin 15 strămoși comuni. 80% dintre genele populației actuale provin de la ei, iar 43% provin de la 5 fondatori. Rezultă că uniunile inițiale nu au contribuit în egală măsură la constituirea rezervorului de gene prezent.

Importanța acestui fenomen pentru genetica medicală este ilustrată de exemplele care urmează.

În 1690 a fost înființată în Elveția o sectă religioasă — anabaptiștii. Fondatorii ei — Amish — au emigrat în S.U.A. spre 1714. Cea mai mare parte dintre urmașii lor locuiesc acum în Pennsylvania, Ohio și în Canada. Alte grupuri mai restrînse s-au așezat în diverse regiuni din S.U.A. În 1960 existau aproximativ 40 000 de Amishi.

Ei formează grupe închise cu foarte puține contacte cu celelalte populații. Fiecare grupă constituie astfel un subizolat. În cîteva dintre aceste subizolate frecvența unor tulburări ereditare este semnificativ mai mare decît în restul populației. De pildă, 5‰ dintre Amishii din Pennsylvania au o tulburare extrem de rară — sindromul Ellis van Creveld, caracterizat prin nanism, un deget suplimentar, malformații cardiace, anomalii ale unghiilor și părului. Sindromul este condiționat de o mutație recesivă în formă homozigotă. După datele lui Mc Kusick, 13% dintre membrii populației sînt heterozigoți.

Toate familiile afectate provin dintr-un singur cuplu sosit în S.U.A. în 1776.

Într-un alt grup Amish s-au întîlnit 21 de bolnavi cu anemie hemolitică consecutivă deficienței de piruvat-kinază. Bolnavii făceau parte din 10 fratrii și toate proveneau dintr-o singură familie ajunsă în S.U.A. în 1742.

fosfat-dehidrogenaza, fosfoglucomutaza eritrocitară etc., proteine plasmatice — haptoglobine, transferine etc. Se crede acum că polimorfismul proteinelor este un fenomen obişnuit nu numai la om, ci şi la primate şi chiar la mamifere. Chiar atunci cînd o proteină pare să prezinte aceeaşi formă în toate populaţiile cercetate, ameliorarea tehnicilor de investigaţie demonstrează pînă la urmă existenţa variantelor. Iar variantele considerate rare se dovedesc a fi frecvente.

În grupa polimorfismelor nu intră caracterele cu variaţie continuă, cum ar fi pigmentaţia, şi nici mutaţiile recesive şi rare cu consecinţe negative, cum ar fi albinismul.

Înţelegerea semnificaţiei lor evolutive este considerabilă. Cînd au apărut, cum au apărut, de ce s-au menţinut, sînt cîteva dintre marile întrebări ale evoluţionismului contemporan. Fireşte, răspunsurile nu sînt simple. Aşa cum remarca Buettner-Janusch (1970), „elucidarea proceselor care generează filogenia este complicată de faptul că cercetările noastre au loc după terminarea evenimentului. Două probleme principale complică înţelegerea mecanismului: prima, originea structurilor specifice, indiferent dacă ele sînt proteine, oase sau muşchi; a doua, modificarea acestor structuri în totalitatea sistemelor vii".

Studiul polimorfismelor va permite astfel înţelegerea mai clară a semnificaţiei evolutive a mutaţiilor.

Despre cauzele mutaţiilor se ştie destul de puţin. Mutaţiile prezente în populaţiile naturale nu au nici o explicaţie certă. De aceea au şi fost numite mutaţii spontane. Rata acestor mutaţii poate fi mărită de: radiaţii ionizante, de substanţe chimice (cofeina, analogi ai bazelor purinice şi pirimidinice), de temperatură, precum şi de gene specifice — gene mutatoare —, cunoscute la drosofilă şi la porumb. Descoperirea mutaţiilor induse a dus la ipoteza că o parte dintre mutaţiile spontane ar fi condiţionate de agenţi mutageni naturali, cum ar fi radiaţiile ionizante. Dar rolul acestor radiaţii nu pare să fi fost prea mare. La *Drosophila melanogaster* doar 0,1% din totalul mutaţiilor spontane ar putea fi atribuit radiaţiilor ionizante. Probabil un procent la fel de mare din totalul mutaţiilor spontane umane au aceeaşi explicaţie. În condiţii actuale un individ primeşte în cursul perioadei lui reproductive (de la naştere pînă la sfîrşitul perioadei reproductive) aproximativ 3r doză gonadală. Din această doză, radiaţiile naturale nu asigură decît 95mrads pe an. Pentru a lămuri semnificaţia acestor date trebuie discutată doza de

dublare, adică intensitatea radiaţiei necesare pentru a dubla rata de mutaţii spontane în spermatogonii. În iradierile acute ale celulelor premeiotice de şoarece doza de dublare oscilează între 16—51r. Doza de dublare este mai mare în iradierile cronice.

După părerea lui Ceapoiu (1975), cea mai mare parte dintre mutaţiile spontane ar fi condiţionate de genele mutatoare, ipoteză sprijinită de descoperirea transpozonilor.

În spiritul geneticii clasice, mutaţiile au constituit materia primă a evoluţiei. Ele au apărut şi apar întîmplător. Ca atare, nu sînt un răspuns la solicitările mediului şi deci nu orientează evoluţia. Destinul lor depinde de selecţia naturală. Mutaţiile dezavantajoase sînt eliminate iar cele avantajoase, cele care permit purtătorilor o mai bună adaptare la mediu, sînt fixate. Mutaţii neutre nu există sau, dacă există, sînt extrem de rare.

Chiar în evoluţionismul tradiţional se ştia că această clasificare este arbitrară, deoarece unele mutaţii sînt detrimentale în formă homozigotă şi avantajoase în formă heterozigotă. Apoi se ştia că acţiunea unei mutaţii este condiţionată de mediul genetic în care operează şi de condiţiile mezologice.

O mutaţie se poate fixa sau se poate pierde şi prin alte mecanisme.

PROCESELE GENETICE ÎNTÎMPLĂTOARE

Aceste procese intervin încă din momentul formării gameţilor, deoarece *crossing-over*-ul sau distribuţia cromozomilor în meioză nu sînt supuse nici unei legi biologice. Cum fiecare alelă are o şansă din două de a participa la formarea rezervorului genetic al generaţiei următoare, frecvenţa genelor se poate modifica considerabil de la o generaţie la alta. Variaţiile sînt cu atît mai mari, cu cît volumul populaţiei este mai mic. Datorită hazardului, o alelă poate să dispară sau să ajungă la 100% — este ceea ce s-a numit fixarea hazardului. Iar fluctuaţiile întîmplătoare ale genelor în populaţiile cu efectiv mic au primit numele de derivă genetică sau *genetic drift*.

Rolul evolutiv al proceselor genetice întîmplătoare este subliniat de cîteva cercetări.

Amerindienii au origine asiatică. Momentul pătrunderii lor în America este discutabil. Se pare că primele valuri de

În grupul Amish din Ohio s-au întîlnit mai mulți bolnavi cu tulburări neurologice degenerative și mai mulți copii cu hemofilie B (Lalouel, 1970). Așa cum se remarcă, fiecare grup are o patologie ereditară proprie.

În 1840 aproximativ 50 de familii de francezi, originari din comitatul Charleroix, au emigrat în Canada, în provincia Quebec. Cea mai mare parte a descendenților trăiesc și acum în aceeași regiune. În această populație, Laberge (1969) a studiat 29 de fratrii în care unul sau mai mulți copii prezentau tirozinemie, o eroare în metabolismul tirozinei, caracterizată clinic prin apariția unei insuficiențe hepatice — aceasta este forma infantilă. Mai există și o formă a adultului. Forma infantilă este condiționată de o mutație recesivă în formă homozigotă. Forma adultă se datorește unei mutații independente.

Studiul genealogic a arătat că toți copiii afectați sînt descendenții unui singur cuplu ancestral. Incidența heterozigoților este relativ mare: 2,43—4,17%.

Jacquard (1971) reamintea un exemplu la fel de interesant. În 1870, opt indieni din Honduras s-au refugiat într-o regiune greu accesibilă și izolată. Prin căsătorii realizate exclusiv în cadrul grupului populația a crescut permanent. În jurul anului 1970 erau aproape 300. Cum comunitatea a fost riguros închisă, toți membrii actuali sînt descendenții celor opt fondatori. Unul dintre ei era heterozigot pentru o mutație care în formă homozigotă condiționează un anumit tip de surditate. În prezent 11% dintre strănepoții fondatori sînt surzi.

Un ultim exemplu. În secolul 18 un taifun sau o foamete prelungită a pustiit micile insule Pingelop din Oceanul Pacific. Au supraviețuit doar vreo 30 de locuitori. Din populația contemporană constituită din aproximativ 3 000 de oameni, 5% au acromatopsie — o diminuare a acuității vizuale însoțită de o deficiență a capacității de a distinge culorile. Tulburarea este condiționată de o mutație recesivă autozomală în formă homozigotă.

Efectul fondatorului antrenează o sărăcire a rezervorului genetic al populației. Fenomenul este cu atît mai important, cu cît efectivul populației este mai mic. În asemenea circumstanțe intervin și procesele genetice întîmplătoare: anumite gene nu se mai transmit generației următoare și dispar definitiv din rezervorul genetic. Dacă populația rămîne izolată

mult timp, atunci toți membrii ei devin homozigoți pentru toți locii. Este o posibilitate mai curînd teoretică.

Se poate conchide că efectul fondatorului favorizează mai puțin speciația și mai mult diversificarea populațiilor.

CURENTUL GENIC

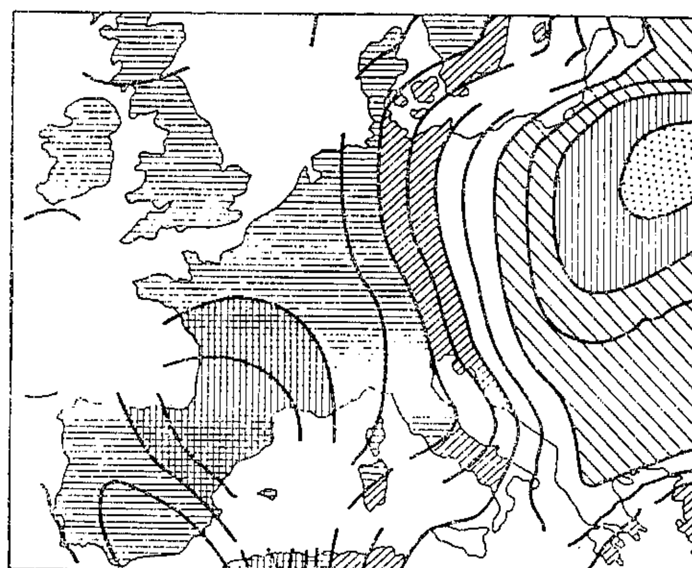
Populațiile de hominide au fost întotdeauna foarte mobile. Ele au migrat, din rațiuni diverse, iar migrația a însemnat amestecul cu alte populații sau, sub raport genetic, un schimb de gene cu alte populații. Acest proces a fost numit curent genic. Uneori se face o distincție între migrație — care implică amestecul a două populații diferite — și curent genic — care presupune doar încrucișarea unui număr limitat de indivizi din două populații distincte, dar învecinate.

Curentul genic a fost un factor evolutiv important. Datorită permanentului schimb de gene, toate populațiile umane aparțin aceleiași specii. Același proces a permis populațiilor umane să se adapteze la cele mai variate condiții de mediu. Fiecare populație a contribuit la experiența evolutivă a speciei. Mayr (1964) afirma chiar că acest proces a contribuit mai mult decît mutația la diversificarea universului genetic al speciilor.

Un exemplu binecunoscut îl constituie actuala distribuție a grupelor sangvine AB0. Grupa B atinge cele mai mari valori în populațiile mongole din Orientul Îndepărtat (20—30%). Frecvența scade progresiv spre est, așa încît în Europa răsăriteană incidența oscilează între 16 și 20%, iar în Europa apuseană între 5 și 10%. Numai în cîteva regiuni, dintre care cea mai importantă este cea din Munții Pirinei — locuită de basci — frecvența este mai mică de 5%. Clinul este rezultatul amestecului populațiilor europene cu cele mongole. Bascii, care par să fie una dintre cele mai vechi populații europene, au rămas complet izolați (fig. 98).

Este greu de spus ce se va întîmpla în viitor. S-ar putea ca actualul clin să dispară, dacă nu intervine selecția naturală.

Tot migrația explică actuala răspîndire geografică a grupelor sangvine în Marea Britanie. Autohtonii aveau o mare concentrație de grupă 0. Relativ recent sudul insulei a fost invadat de populații continentale, caracterizate serologic printr-o mare frecvență a grupei A. Sub presiunea noilor veniți,



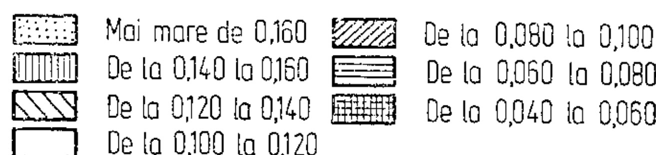


Fig. 98. Distribuţia grupei sangvine B în Europa (după Bodmer şi Cavalli-Sforza, 1976).

autohtonii s-au retras spre nord. În acest fel frecvenţa grupei A scade de la sud (30—35%) spre nord (15—20% în nord-est şi 20—25% în nord-vest).

Schanfield şi Gershowitz (1973) au studiat distribuţia haplotipurilor Gm în populaţiile din Extremul Orient. Ei au remarcat că frecvenţa haplotipului Gm^{afb} scade regulat de la sud spre nord, în timp ce frecvenţa haplotipurilor Gm^{ag}, Gm^{axg} şi Gm^{abst} creşte. S-a presupus că fenomenul este rezultatul amestecului între populaţii diferite: una de origine sudică, care avea o mare frecvenţă de Gm^{afb} şi o mică frecvenţă de Gm^{ag}, Gm^{axg}: în această populaţie haplotipul Gm^{abst} era absent. A doua populaţie, de origine nordică, nu avea Gm^{afb}, dar avea o mare frecvenţă de Gm^{ag}, Gm^{axg} şi Gm^{abst}.

Informaţiile cele mai concludente le-a adus studiul populaţiilor albe şi negre din S.U.A. Datorită numeroaselor încrucişări dintre bărbaţi albi şi femei de culoare, s-a modificat frecvenţa unora dintre genele iniţiale ale populaţiei de culoare. Prin incidenţa unor gene, negrii din S.U.A. sînt mai aproape de albii din S.U.A. decît de negrii din Africa, aşa cum rezultă şi din tabelul 55.

Tabelul 55

Frecvenţa alelelor pentru negrii africani şi pentru negrii şi albii care trăiesc în Georgia şi California (după Adams şi Ward, 1973)

Alela		Negri Africa	Negri California	Negri Georgia	Albi California	Albi Georgia
R_0	sistemul Rh	0,617	0,486	0,533	0,023	0,022
R_1	sistemul Rh	0,066	0,161	0,109	0,413	0,429
R_2	sistemul Rh	0,061	0,071	0,109	0,140	0,137
$r+R_0^u$	sistemul Rh	0,245	0,253	0,230	0,405	0,374
A	alele	0,156	0,175	0,145	0,247	0,241
B	AB	0,136	0,125	0,113	0,068	0,038
Fy^a (grupul sangvin Duffy)		0,000	0,094	0,045	0,429	0,422
Hb (anemia cu celule falciforme)		0,092	Neestimat	0,043	Neestimat	0,000
G6 PD (deficienţa glucozo-6-fosfat dehidrogenazei)		0,176	Neestimat	0,118	Neestimat	0,000

Fluxul genic explică pătrunderea unor mutaţii în populaţii în care mutaţia era necunoscută.

Luxaţia congenitală de şold intră în grupa malformaţiilor congenitale comune condiţionate poligenic. Cu toate acestea, nu este exclusă posibilitatea ca malformaţia să fie condiţionată, uneori cel puţin, de o mutaţie dominantă cu penetranţă incompletă. Presupunerea este sprijinită de cercetarea făcută de Sutter (1966) în departamentul Finistère (Franţa). El a studiat 128 000 de elevi. 256 dintre ei erau anormali. Apoi a mai găsit 109 cazuri în fişele spitalului. Localizînd procentul de afectaţi, a remarcat că cea mai mare frecvenţă, 2,91%, se întîlnea în zona Pont l'Abbé, într-o populaţie închisă de origine celtică. Procentul scădea apoi progresiv cu distanţa, aşa încît în regiunile cele mai îndepărtate de epicentru ajungea la 0,27‰ şi apoi la zero. Sutter a arătat că procentul este condiţionat de intensitatea migraţiei. Cu cît numărul migranţilor este mai mare, cu atît este mai mare procentul copiilor cu luxaţie congenitală de şold.

rabilă a razelor ultraviolete. În regiunile în care intensitatea acestor raze este mijlocie sau puternică, populaţiile au pigmentaţia închisă; pigmentaţia închisă este, astfel, un mijloc de a evita supraîncălzirea.

Nu ar fi exclus ca mecanismul să fie însă altul. După Loomis, primii oameni formaţi în Africa au fost de la început pigmentaţi. În regiunile toride ale ecuatorului, hiperpigmentaţia constituie un factor care favorizează rahitismul, deoarece numai 3% din razele ultraviolete solare străbat straturile cutanate ale negrilor. Cu toate acestea ea este mai avantajoasă decît depigmentaţia. Sub acţiunea aceloraşi raze, europenii produc cantităţi considerabile de vitamină D. Consecutiv apar fenomene grave de intoxicaţie vitaminică; hipercalcemie, litiază renală, accidente vasculare. Între rahitism şi hipervitaminoză, selecţia naturală a „ales" rahitismul. Evident, populaţiile depigmentate sînt favorizate în regiunile temperate. Dacă ipoteza este corectă, atunci rămîne inexplicabilă existenţa mongolilor. Totuşi, Loomis crede că în realitate sînt puţine populaţii mongole intens pigmentate. Aceştia sînt eschimoşii. Ei nu fac rahitism, deoarece consumă mari cantităţi de ficat de peşte, bogat în vitamină D.

GRUPELE SANGVINE

Se ştie de cîteva decenii că hematiile conţin numeroşi antigeni. Cei mai bine cunoscuţi sînt antigenii A, B, H. Se ştie, de asemenea, că frecvenţa lor variază considerabil de la o populaţie la alta. Interpretarea acestui polimorfism continuă să rămînă incertă. Se presupune că actuala distribuţie este rezultatul mai multor factori evolutivi.

Unul dintre ei ar putea fi selecţia naturală. Ipoteza este susţinută de două argumente:

— structura antigenilor eritrocitari este similară cu structura unor antigeni bacterieni;

— existenţa unei asociaţii statistic semnificative între bolile infecţioase şi sistemul ABO. Cea mai concludentă este cea dintre grupele sangvine şi variolă. Infecţia este determinată de un virus care conţine un antigen similar antigenului eritrocitar A. Ca atare, indivizii cu grupa sangvină A vor face o formă clinică gravă, deoarece nu pot produce anticorpi anti-A în aceeaşi măsură în care produc persoanele B, de

pildă. Dacă ipoteza este corectă, atunci formele uşoare vor fi întîlnite îndeosebi printre indivizii B şi 0. Implicit în regiunile bîntuite de variolă frecvenţa genelor pentru grupele sangvine se modifică: frecvenţa grupei A scade iar frecvenţa grupelor B şi 0 creşte. Ipoteza a fost verificată în India unde variola a fost endemică foarte mult timp. Totuşi grupa A nu a dispărut din nici o regiune endemică. Răspunsul nu este clar. S-a presupus că persistenţa acestei grupe se datoreşte altor factori selectivi.

Bacilul pestei conţine un antigen similar antigenului H uman. Omul nu produce însă anticorpi anti-H. Teoretic toţi indivizii au deci aceleaşi şanse de a rezista infecţiei. Nu ar fi totuşi exclus ca organismele 0 să aibă o capacitate diminuată de rezistenţă faţă de germenii care au acelaşi antigen. Dacă ipoteza este corectă, atunci sînt avantajaţi indivizii A şi B. Astfel, în funcţie de frecvenţa celor două epidemii variolă şi pestă, frecvenţa grupei A se menţine la un anumit nivel. Deoarece B este avantajoasă în ambele circumstanţe, frecvenţa ei va creşte. Aşa se întîmplă în India. Grupa sangvină 0 atinge valori mari doar în zonele periferice ale lumii, acolo unde epidemiile de pestă au fost rare.

S-a observat apoi existenţa unei asociaţii între grupele sangvine şi o serie de boli. Statistic sînt semnificative numai asociaţiile dintre grupa sangvină A şi cancerul gastric, între grupa A şi anemia pernicioasă şi între grupa 0 şi ulcerul duodenal. Cu toate acestea, nu se ştie dacă fenomenul este real sau nu. În orice caz, chiar dacă ar fi aşa, nu ar avea nici o valoare evolutivă. Pentru ca cele trei boli să modifice frecvenţa genelor, ele ar trebui să ducă la eliminarea purtătorilor înainte de începutul perioadei de reproducţie, sau la scăderea fertilităţii lor. Numai cancerul este letal, dar el apare în general tîrziu, după terminarea perioadei de reproducere.

S-ar putea ca actuala distribuţie să fie condiţionată şi de alţi factori.

1 — Selecţie prezigotică. Ipoteza a pornit de la observaţia că din uniunile, mamă 0, tată A, rezultă un număr semnificativ mai mic de copii A decît numărul aşteptat teoretic. Pentru explicarea fenomenului au fost emise mai multe ipoteze: derivă meiotică — formarea unui număr inegal de spermatozoizi (mai mulţi spermatozoizi cu gena 0 şi mai puţini cu gena A); competiţie spermatică (fecundaţia se realizează preferenţial de gameţi cu o anumită alelă); incompatibilitate

spermatică (spermatozoizii cu o alelă specifică sînt eliminați preferențial în tractul genital al femeii).

Aceste explicații generate de cercetările de genetică experimentală sînt însă greu de dovedit.

2 — Selecție zigotică. În această ipoteză are loc eliminarea preferențială a zigoților care nu au grupa sangvină a mamei. S-ar putea ca acest mecanism să fie real.

În același timp, selecția ar avantaja heterozigoții, AB de pildă. Presupunerea este susținută de faptul că din căsătoriile între soți AB×AB apare un exces de copii AB. De asemenea, din uniunile între soți A0×A0 se nasc mai mulți copii A0 decît ar fi de așteptat teoretic. Nu se știe însă care ar putea fi avantajul heterozigoților.

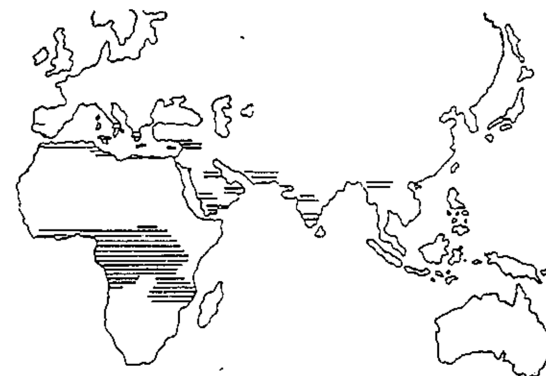
SELECȚIA HETEROZIGOȚILOR

Teoretic vorbind, orice mutație cu efecte letale în formă homozigotă tinde să fie eliminată. Ea nu se poate fixa decît în cazul în care conferă purtătorilor un avantaj selectiv. In asemenea circumstanțe însă poate atinge frecvențe mari sau foarte mari. Exemplul cel mai concludent îl constituie hemoglobina S. Homozigoții pentru gena care condiționează hemoglobina S mor în copilărie. Numai foarte puțini supraviețuiesc și au descendenți. În acest fel în fiecare generație se pierd numeroase alele. Și totuși frecvența mutației este mare în anumite părți ale lumii: în Africa sud-sahariană, în India și în celelalte regiuni toride ale Asiei. Există însă și diferențe importante între populații. Mutația este frecventă în triburile Bantu și Nilotidice și rară în triburile hamitice. În unele populații frecvența heterozigoților ajunge la 40% sau chiar mai mult. Numai două mecanisme ar putea explica acest fenomen (fig. 99):

— o rată de mutație excepțional de mare, de 3 000 de ori mai mare decît rata medie observată la om;

— avantajul heterozigoților. In condiții particulare de mediu heterozigoții — cu o alelă pentru hemoglobina A și cu o alelă pentru hemoglobina S — ar prezenta un avantaj pe care nu îl are nici unul dintre homozigoți — AA sau SS. Aceasta fiind singura explicație plauzibilă trebuie căutat factorul de mediu specific.

Haldane a sugerat în 1949 că bolile infecțioase au constituit unul dintre agenții majori ai selecției naturale. Printre ele se înscrie și malaria, unul dintre cei mai disruptivi factori pe care i-a cunoscut istoria umană. În jurul anilor 1950 mortalitatea condiționată de malarie era, în zonele endemice, de 1‰.



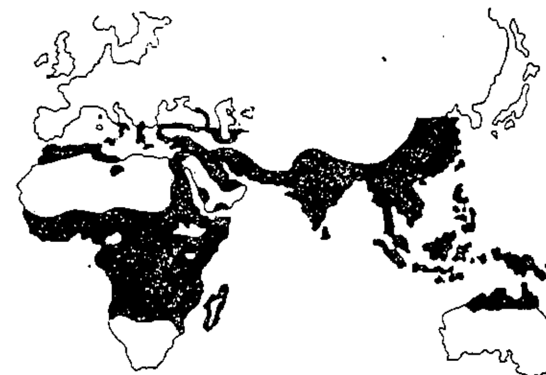


Fig. 99. Distribuția hemoglobinei S (sus) și a malariei (jos) (după Motulsky, 1960).

Malaria este condiționată de mai mulți paraziți, toți aparținînd genului *Plasmodium*. Dintre ei cel mai important este *P. falciparum*. El determină forme grave, cu leziuni cerebrale și renale, care duc deseori la moarte.

În regiunile endemice întreaga populație este infestată. Cu toate acestea, numai un procent cad victimă bolii. Se poate presupune că populația sau populațiile din regiunile endemice au reușit să „găsească“ un mijloc de protecție. Acest mijloc

îl constituie Hb S. Afirmația se bazează pe un număr considerabil de fapte. Astfel, distribuția geografică a malariei se suprapune peste cea a hemoglobinei anormale. Apoi s-a văzut că numărul copiilor heterozigoți care mor de malarie este semnificativ mai mic decît numărul așteptat. De pildă, printre 104 copii morți de malarie se găsea un singur heterozigot, deși ar fi trebuit să se observe 23 dacă mortalitatea determinată de malarie ar fi fost aceeași și la heterozigoți și la homozigoți. Și mai interesantă a fost observația că printre copiii cu malarie cerebrală internați într-un spital din Kampala (Uganda) nu se găsea nici un heterozigot. Lipsa complicațiilor severe pare să fie consecința unei parazitemii reduse, mai mică decît cea observată la copiii homozigoți AA. În general, în regiunile unde alela Hb S este obișnuită și malaria este endemică, heterozigoții au o parazitemie mai mică decît homozigoții.

Cercetările făcute pe voluntari au demonstrat apoi că heterozigoții au o susceptibilitate mai mică decît homozigoții AA (Hb A).

Deoarece mortalitatea heterozigoților este inferioară celei a homozigoților anormali, în populația adultă procentul heterozigoților este superior celui observat printre copii. Tabelul 56 ilustrează această afirmație.

Tabelul 56

Frecvența comparativă a genotipurilor AA-AS și SS în serii de copii și de adulți (după Allison, 1956)

Populația	Număr total	AA		AS		SS	
		Număr	%	Număr	%	Număr	%
Adulți	654	400	61,2	249	38,1	5	0,9
Copii	287	189	65,9	89	31,0	9	3,1

Așa cum se vede din tabel, heterozigoții constituie 31,0% din totalul populației de copii mai mici de un an și 38,1% din totalul populației adulte. Odată cu vîrsta scade și frecvența genotipurilor AA și mai ales SS.

Datele prezentate demonstrează că heterozigoția constituie un avantaj selectiv important. Avantajul pare să fie mai evident la începutul vieții. Mai tîrziu el este mascat de imunitatea cîștigată.

Există o explicație biochimică a rezistenței heterozigoților față de malarie. În culturi de celule, *Plasmodium falciparum* crește la fel de bine și în celule cu hemoglobină normală și în celulele heterozigote. Dar deoxigenarea celulelor heterozigote antrenează moartea parazitului. La bolnavi se întîmplă un fenomen similar. Parazitul scade *p*H-ul celular și consecutiv fenomenul de *sickling* se amplifică, ucigînd și parazitul.

Nu ar fi exclus ca actuala distribuție a heterozigoților să fie menținută și de alți factori. În Honduras, de pildă, heterozigotele, după cum sugerează mai multe cercetări ample, au o fecunditate superioară celei a homozigotelor normale. Nu se știe dacă fenomenul este general, deoarece în Africa este mult mai puțin evident; nu se știe apoi dacă nu cumva fertilitatea este relativă, mai exact dacă nu cumva heterozigotele nasc mai mulți copii, deoarece homozigotele AA pierd mai multe sarcini, sau dacă nu cumva heterozigotele au mai mulți copii deoarece trăiesc mai mult decît homozigotele AA.

În ipoteza în care frecvența genei pentru Hb S este rezultatul selecției naturale, atunci eradicarea malariei va antrena o reducere a incidenței heterozigoților. Presupunerea a fost verificată în populațiile de culoare din S.U.A. Această populație provine din sclavii aduși între 1520 și 1800 de pe coasta de vest a Africii, îndeosebi din Ghana. Aici frecvența heterozigoților este de 20% și probabil era la fel de mare și în urmă cu cîteva secole. Dacă nu ar exista nici o relație între malarie și hemoglobina anormală, atunci frecvența printre negrii din S.U.A. ar trebui să fie la fel de mare ca cea de pe coasta de vest a Africii. Or, ea este doar 9%, așa cum era de așteptat. Diminuarea este însă mult prea mare pentru a fi atribuită doar dispariției avantajului selectiv. Se presupune că au intervenit și alți factori despre a căror natură nu se știe însă nimic.

Mutația a apărut de mai multe ori în diverse populații. Probabil unele dintre ele au constituit centre de difuziune a mutației. O genă de 13 000 de baze a apărut în vestul Africii și de acolo a migrat spre nordul Africii și restul bazinului mediteranean. Tot din vestul Africii provin și populațiile de culoare din S.U.A. O altă genă formată din 7 600 de baze a apărut în estul Africii și a migrat spre Orient și mai departe spre Asia.

Alte două hemoglobine anormale, C și D, au o distribuție geografică particulară și ating în unele populații frecvențe atît de mari, încît nu pot fi explicate decît presupunînd că

heterozigoții au un avantaj selectiv. Ca și Hb S, sînt prezente în regiunile malarice din vestul Africii, din India, din insulele din Marea Caraibilor și printre negrii din S.U.A.

Tot din grupa polimorfismelor au fost incluse hemoglobina E, hemoglobina K și hemoglobina O. Și ele ar avea aceeași explicație, deși există mai puține dovezi decît pentru Hb S. Astfel, s-a observat că heterozigoții pentru Hb E fac mai rar decît homozigoții normali malarie cerebrală, sau chiar nu fac.

După toate probabilitățile, și alte mutații recesive cu efecte severe în formă homozigotă — talasemiile — sau mai puțin importante — deficiența glucozo-6-fosfat-dehidrogenazei — ating frecvențe mari datorită intervenției selecției naturale.

Talasemiile constituie una dintre cele mai frecvente tulburări ereditare ale lumii noastre. În lume ar trăi cel puțin 10 milioane de homozigoți. Marea lor majoritate trăiesc în țările din bazinul Mării Mediterane: în Italia — 20% pe valea Padului, 38% în unele sate din Sicilia; în Grecia — 6—14%; în nordul Africii — 1—15%; în Africa sud-sahariană — 2—3%; în Orientul Apropiat — 5—15%, precum și în India și în Peninsula Indochineză. 2% dintre negrii din S.U.A. sînt heterozigoți pentru α-talasemie.

Această distribuție nu poate fi întîmplătoare. Haldane a emis ipoteza că heterozigoții ar rezista mai bine infecției malarice. Ipoteza a fost verificată în populații de aceeași origine care trăiesc în medii diferite, cu malarie și fără malarie. Talasemia a fost observată doar în populațiile din zonele cu malarie.

Deficiența glucozo-6-fosfat-dehidrogenazei este condiționată de o serie de alele situate pe cromozomul X. Ca atare, bărbații sînt fie normali, fie afectați, iar femeile pot fi normale, heterozigote și homozigote pentru una dintre alele. Anomalia enzimatică atinge frecvențe mari în populațiile africane, unde este asociată cu Hb S, în bazinul Mării Mediterane, unde este asociată cu talasemia, și în Asia, unde este asociată cu Hb E. În unele regiuni frecvența heterozigoților ajunge la 20%.

Nici această distribuție nu poate fi întîmplătoare. Se pare că și această deficiență constituie un mijloc de protecție față de malarie. Dovada o aduce faptul că deficienții au o parazitemie mai mică decît indivizii normali.

De curînd s-a demonstrat că și distribuția grupei sangvine Duffy este determinată de selecția naturală. Sistemul sangvin Duffy este condiționat de o serie de alele. Aglutinogenele Fy^a și Fy^b sînt frecvente în zonele temperate, în timp ce tipul Fy (a—b) este întîlnit îndeosebi în zonele malarice din Africa și lipsește sau este foarte rar în populațiile albe. S-a conchis că aglutinogenul Fy^a și aglutinogenul Fy^b acționează ca receptori pentru paraziții malariei, permițînd astfel protozoarului pătrunderea în hematii. Indivizii care nu au acești antigeni sînt genetic relativ rezistenți față de malarie.

Din prezentarea acestor date se deduce că selecția naturală acționează asupra variabilității genetice a populației care ocupă un mediu dat și că alege din această variabilitate ceea ce poate, fără să aștepte cea mai bună soluție. Într-o populație favorizează o hemoglobină anormală, în alta talasemia, iar în alta deficiența G6 PD. Și nu foarte rar a favorizat în aceeași populație două mutații.

Studiul anemiei cu celule falciforme a dus la ipoteza că și alte tulburări deosebit de frecvente în lumea contemporană ar putea fi explicate printr-un mecanism similar.

Despre schizofrenie se știe destul de puțin. Se știe că este frecventă — 0,3—0,6% în populațiile exogame — și că poate atinge valori mult mai mari în unele izolate. Se știe că apariția ei implică un coeficient ereditar relativ important. Nu se știe dacă este condiționată de o singură mutație genică sau poligenică. Huxley și col. (1964) au presupus că purtătorii în spiritul ipotezei, (tulburarea ar fi condiționată de o mutație recesivă în formă homozigotă) ar avea un avantaj selectiv. Ei ar avea o rezistență fizică superioară indivizilor homozigoți normali, ar rezista mai ușor infecțiilor, traumatismelor, alergiilor și reacțiilor induse de unele substanțe chimice; purtătorii ar avea și o fertilitate crescută.

Este imposibil de spus dacă explicația este reală sau nu, dar, oricum, ea reflectă modul de a gîndi al geneticii de tradiție darviniană.

Un mecanism asemănător ar putea fi implicat și în actuala frecvență a fibrozei chistice. Frecvența tulburării oscilează între 1/6 000—1/1 800 în S.U.A. și 1/25 000 în Marea Britanie și nordul Europei. O asemenea frecvență nu poate fi menținută prin mutații recurente. De aceea s-a sugerat că incidența se menține datorită avantajului heterozigoților. Aceștia ar avea mai mulți descendenți decît homozigoții normali. O cercetare efectuată la sfîrșitul deceniului trecut a arătat că

heterozigoţii au mai mulţi copii vii, 4,67, decît homozigoţii normali — sub 4.

Tot selecţiei naturale i s-a atribuit şi frecvenţa actuală a hiperlipemiilor. Din punct de vedere genetic se deosebesc două forme: una dominantă care afectează aproximativ 3% dintre toţi nou-născuţii şi una sau eventual mai multe condiţionate poligenic prezentă sau prezente la 5% dintre nou-născuţi. Deci în total aproximativ 8% dintre nou-născuţi au un risc crescut de a dezvolta ateroscleroză. O asemenea valoare duce la presupunerea că aceste genotipuri sînt sau au fost avantajate selectiv în anumite condiţii de mediu. Dacă au fost avantajoase şi avantajul a dispărut atunci frecvenţa ar trebui să diminueze.

RELAXAREA SELECŢIEI NATURALE

Frecvenţa unei mutaţii nefavorabile poate să crească datorită diminuării eficienţei selecţiei naturale — relaxării selecţiei.

Fiecare dintre marile succese ale medicinii a redus eficacitatea selecţiei naturale. Mulţi dintre purtătorii unor tulburări ereditare severe supravieţuiesc şi se reproduc. Implicit se amplifică frecvenţa tulburării.

a) *Discromatopsiile.* Incapacitatea de a distinge culorile, verde — deuteroanopia şi deuteroanomalia — şi roşu — protoanopia şi protoanomalia — este condiţionată de mutaţii recesive situate pe cromozomul X.

Frecvenţa tulburării variază considerabil de la o regiune culturală la alta. Este mică în populaţiile de vînători şi de pescari „primitivi" — maori din Noua Zeelandă, eschimoşi; atinge valori moderate — 3—5% — în populaţiile în care dezvoltarea a început ceva mai tîrziu şi ajunge la 7—8% în Europa.

Se poate spune deci că daltonismul a crescut paralel cu dezvoltarea civilizaţiei. Dar bolile civilizaţiei sînt într-o mare măsură o consecinţă a relaxării selecţiei naturale. Pentru vînătorii şi pescarii paleolitici sau neolitici ca şi pentru cei contemporani, supravieţuirea este condiţionată de o acuitate vizuală perfectă. Orice deficienţă poate fi fatală. Bolnavii cu daltonism disting bine culorile, cu excepţia culorilor roşu şi verde, dar obosesc repede. De aceea ei cădeau mai uşor pradă

animalelor sălbatice. Odată cu dezvoltarea agriculturii şi cu înfiinţarea centrelor urbane, agricultorul neolitic este mai puţin expus riscurilor pe care le aduce vînătoarea. Şi în timp frecvenţa mutaţiilor începe să crească.

Adam şi col. (1970) au remarcat că ipoteza este doar parţial corectă. În toată lumea, indiferent dacă este vorba despre europeni, japonezi sau tailandezi, frecvenţa deuteroanopiei şi protoanopiei rămîne constant în jurul lui 1%. Se modifică doar frecvenţa genei pentru deuteroanomalie. Dar în China, India şi Turcia, contrar aşteptărilor, frecvenţa acestei mutaţii este mai mică decît în Europa. De aceea Post se întreabă dacă nu cumva selecţia naturală, din raţiuni incerte, n-a permis decît creşterea alelei pentru deuteroanomalie.

Post a studiat, de asemenea, incidenţa miopiei în lumea contemporană. El a plecat de la datele cunoscute. Miopia, condiţionată poligenic, este rară sau absentă printre boşimani, australieni (autohtoni), amerindieni şi melanezieni şi frecventă printre europeni, japonezi şi egipteni — peste 15%. Chiar în interiorul aceleiaşi populaţii frecvenţa diferă de la o grupă la alta. De pildă, în India, miopia apare mult mai des printre brahmani, cu o veche tradiţie culturală, decît în grupele de vînători şi pescari.

Interpretarea acestor observaţii pare simplă. Miopia era un handicap major pentru vînătorii şi pescarii preistorici. Mulţi dintre ei erau eliminaţi înainte de începutul perioadei reproductive. Frecvenţa anomaliei rămînea astfel mică. A început să crească după organizarea primelor aşezări stabile de agricultori.

SELECŢIA ARTIFICIALĂ

Selecţia naturală poate fi înlocuită cu selecţia artificială, de o selecţie realizată cu scopuri bine definite de către om. Ea urmăreşte formarea unor linii cu anumite caractere — de la dimensiuni la comportament. În asemenea circumstanţe evoluţia se desfăşoară rapid. Un experiment similar a fost realizat *in vitro* (Spiegelman, 1971).

Materialul supus selecţiei a fost un fragment de ARN din bacteriofagul QB care avea dubla capacitate de a fi cea mai mică unitate cromozomală replicabilă şi de a se replica rapid. Iniţial se evalua la fiecare 20 de minute cantitatea de ARN sintetizat. Apoi o cantitate de ARN a fost transferată

în alt tub. În total Spiegelman a efectuat 75 de transferuri, micșorînd progresiv intervalul dintre ele, pînă cînd transferul avea loc la 5 minute. În cursul acestor transferuri au apărut numeroase modificări ale fragmentului de ARN. Mai întîi s-au pierdut genele care codifică proteinele necesare capsulei și gena care specifică replicaza. Ulterior dimensiunile fragmentului au diminuat cu 85%. S-au păstrat numai genele necesare replicării.

Această experiență aruncă o lumină nouă asupra mecanismului selecției artificiale. Astfel selecționînd animalele sau plante cu un caracter dat se pot păstra și gene cu efecte negative. De aceea selecția artificială nu aduce întotdeauna rezultatele așteptate.

ALȚI FACTORI CARE PARTICIPĂ LA MODIFICAREA VARIABILITĂȚII GENETICE

MIGRAȚIA PREFERENȚIALĂ

În general, cel puțin în lumea contemporană, migrația are un caracter preferențial. Prin plecarea unui grup de dimensiuni variabile structura genetică a populației care rămîne se poate modifica sau nu. În ipoteza în care într-un izolat există o boală ereditară, afectații nu pleacă. Rămîn deseori și copiii lor. Și astfel concentrația mutației crește.

Fenomenul a fost descris destul de rar. Kishimoto (1957) a studiat cîteva izolate japoneze, în care frecvența schizofreniei oscila între 0,47 și 3,35%, valoare superioară celei observate în seria martor — 0,31%. Frecvențele mari ar putea fi atribuite fie efectului fondatorului, fie proceselor genetice întîmplătoare. Și explicațiile nu pot fi eliminate.

Totuși, după părerea lui Kishimoto, cea mai plauzibilă explicație este migrația preferențială. Satele studiate de el erau înapoiate economic. În momentul în care a început industrializarea, cei apți de muncă au migrat. Au rămas, printre alții, bolnavii. Temporar cel puțin numărul de cazuri a crescut.

Este greu de spus dacă migrația preferențială a avut și un rol evolutiv. Oricum, lămurește uneori profilul patologic al izolatelor.

ALEGEREA SOȚULUI

După toate probabilitățile, alegerea soțului implică și un coeficient genetic — înălțime, pigmentație, inteligență etc. Soții pot avea caractere similare — homogamie pozitivă — sau deosebite — homogamie negativă. Populațiile în care căsătoriile se fac în funcție de fenotip, se numesc homogame. De cele mai multe ori, selecția partenerului se face pe baza unui număr restrîns de caractere.

Consecințele homogamiei sînt variate, și în general destul de puțin importante: ele influențează doar frecvența genelor care controlează caracterele implicate. În ipoteza în care se căsătoresc persoane handicapate genetic, eventualitate rară, dealtminteri, incidența mutațiilor specifice se menține la un nivel ridicat.

Deoarece, așa cum s-a spus, fenomenul este rar, nu pare să fi avut vreun rol în evoluția patologiei umane.

EVOLUȚIA NE-DARVINIANĂ

Aceștia sînt factorii evoluției, așa cum sînt acceptați în evoluționismul modern de tradiție darviniană — teoria sintetică a evoluției. Dar darvinismul ca atare nu mai este acceptat fără rezerve — este vorba despre mecanismul evoluției și nu despre evoluție.

După părerea lui Lövtrup (1977), darvinismului i se pot aduce o serie de critici perfect îndreptățite. Astfel, contrar concepției darviniene, o specie nu dă naștere altei specii, ci unor noi sub-specii. Apoi teoriile darviniene pornesc de la premisa că evoluția înseamnă reproducție sexuată. Or, și organismele asexuate prezintă transformări evolutive.

Cele mai multe critici au fost aduse concepției darviniene a selecției naturale.

Este evident că favorizînd un anumit genotip, selecția elimină alele alternative. Ca atare, în fiecare populație, pentru fiecare locus controlat de selecție naturală, va dispărea în fiecare generație un procent oarecare de indivizi. Este prețul pe care populația îl plătește pentru a-și asigura adaptarea la mediu. Este ceea ce Haldane a numit „costul selecției naturale". Dacă însă selecția naturală acționează simultan asupra unui număr prea mare de loci, atunci numărul indivizilor care urmează să fie eliminați este atît de mare, încît

populația este amenințată cu extincția. De aceeea selecția naturală are un rol evident conservativ. Ea pare să păstreze ceea ce specia a cîștigat și nu să favorizeze schimbările adaptative. Dovadă proteinele funcționale au o structură similară în toate speciile studiate. Se deosebesc una de alta prin restructurări minore, neutre sub raport evolutiv, prin substituții de aminoacizi.

Tendința conservatoare a selecției naturale este subliniată și de alte fapte. Astfel, Ohno (1973) a analizat semnificația *linkage*-ului. În ipoteza în care selecția naturală acționează eficient, atunci genele care participă la sinteza unei proteine specifice ar trebui să se găsească în *linkage*. Analiza genelor care intervin în sinteza hemoglobinelor, de pildă, a arătat însă că genele pentru lanțurile beta, delta și gamma sînt într-adevăr în *linkage*. Dar gena pentru sinteza lanțurilor alfa nu aparține acestui grup. Dacă selecția naturală tinde să formeze unități funcționale din genele care participă la realizarea aceluiași produs atunci trebuiau să se găsească în *linkage* genele pentru lanțurile alfa și beta sau alfa și gamma, adică genele ce participă la sinteza hemoglobinei fetale și a hemoglobinei adultului. Faptul că genele pentru lanțurile beta, delta și gamma sînt în *linkage* se datorește replicării unei gene ancestrale.

Așa cum s-a spus mai înainte, conform darvinismului, toate genele sînt avantajoase. Dar biologia moleculară a demonstrat că foarte multe gene sînt polimorfice. Or, este greu de presupus că într-o populație care ocupă o nișă ecologică toate alelele sînt avantajoase.

În fața faptelor, Kimura (1968) demonstrează că alelele sînt neutre sub raport evolutiv. Substituțiile de baze și implicit de aminoacizi nu alterează substanțial structura și funcția proteinei. Ca atare, nu se modifică nici *fitness*-ul individual. Destinul mutației depinde exclusiv de întîmplare. În decurs de cîteva generații o mutație se poate pierde sau se poate fixa sub acțiunea exclusivă a proceselor genetice întîmplătoare. În timp ea poate înlocui alela anterioară. Dar așa cum sublinia chiar Kimura, nu toate alelele noi sînt neutre. Este cert că o parte dintre ele sînt avantajoase și că au fost fixate de selecția naturală, cel puțin la nivel fenotipic. La nivelul „macromoleculelor există mult mai multe modificări evoluționare produse de procesele genetice întîmplătoare decît au visat vreodată evoluționiștii neo darvinieni".

În sprijinul teoriei sale, Kimura a adus o serie de argumente. Cel mai puternic îl constituie evoluția moleculară, mai exact rata de substituție a aminoacizilor în proteinele omoloage ale speciilor. El a studiat numărul de aminoacizi prin care diferă două specii și a ajuns la concluzia că cu cît două specii sînt mai apropiate filogenetic, cu atît au un număr mai mic de aminoacizi deosebiți. Iată un exemplu.

Anhidraza carbonică este o proteină relativ abundentă în eritrocite. Ea catalizează hidratarea reversibilă a CO_2. Electroforetic s-au identificat două forme moleculare distincte. Prima — CA I — este prezentă într-o concentrație mai mică, dar are o activitate superioară celei de-a doua forme — CA II. Cele două izozime sînt controlate de două gene autozomale diferite strîns legate. Nu se știe cert dacă mai există sau nu și alți loci pentru anhidraza carbonică.

Structura biochimică a izozimelor este binecunoscută. CA I este formată din 260 de aminoacizi, iar CA II din 261 de aminoacizi. 60% dintre aminoacizi sînt identici. Acest fapt a dus la presupunerea că cele două enzime s-au născut prin duplicație genică. Momentul duplicației este incert. Se presupune că a avut loc în primele etape ale evoluției mamiferelor, probabil acum 100—150 de milioane de ani.

Prin cercetări electroforetice întinse s-au descoperit 12 variante ale CA I și o variantă a CA II. Toate sînt rezultatul substituirii unui singur aminoacid.

Alte studii au permis descifrarea parțială sau totală a izozimelor la mai multe specii de primate. Pe baza acestor date, Tashian și Carter (1976) au estimat rata de mutație. În același timp au încercat să stabilească arborele genealogic al anhidrazei carbonice a mamiferelor. Numărul de pe ramurile arborelui filogenetic (fig. 100) reprezintă numărul minim de modificări nucleotidice necesar pentru a realiza diferențele existente între speciile studiate. Ei au ajuns la următoarele concluzii:

— în ultimii 75 de milioane de ani ambele izozime au suferit același număr de substituiri, sau a fost ceva mai mare în CA II.

— rata de substituire în CA II a primatelor superioare a diminuat considerabil în ultimii 35 de milioane de ani; a crescut puțin însă în CA I, cu excepția omului și a cimpanzeului, în care a scăzut semnificativ.

Tashian și Carter (1977) cred că în realitate rata de mutație a rămas aceeași și în CA I și în CA II, dar că forțele

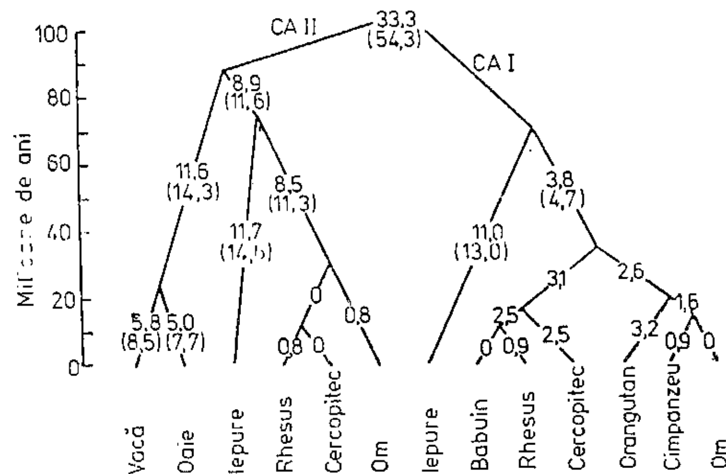


Fig. 100. Arborele filogenetic al izozimelor anhidrazei carbonice (după Tashian, 1971).

selective au acționat diferit asupra celor două izozime ale primatelor superioare.

Rezultate similare a impus și cercetarea comparată a citocromului c, unul dintre elementele lanțului de transport al electronilor între citocrom-reductază și citocrom-oxidază. Citocromul c este constituit dintr-un lanț de 104 aminoacizi legați de o moleculă de hem. O parte dintre acești aminoacizi au rămas nemodificați din momentul separării regnului vegetal de cel animal. Elucidarea structurii tridimensionale a permis și lămurirea fenomenului. Astfel, nu au fost substituiți aminoacizii legați direct de hem, precum și cei ce asigură coeziunea moleculei (fig. 101).

Și mai concludent a fost studiul histonei IV, proteină strîns legată de ADN care controlează expresia informației genetice. Dat fiind rolul ei extrem de important, nu poate tolera decît un număr minim de substituții.

În schimb, fibrinopeptidele au suferit numeroase substituiri. Explicația o aduce din nou funcția biologică a proteinei. Fibrinopeptidul este un polipeptid alcătuit din 20 de aminoacizi care se detașează în cursul procesului de coagulare de fibrinogen, în momentul în care acesta este activat în fibrină. El este astfel supus unor constrîngeri evolutive limitate.

Rata de substituție a aminoacizilor este constantă pentru o proteină dată, dar variază de la o proteină la alta.

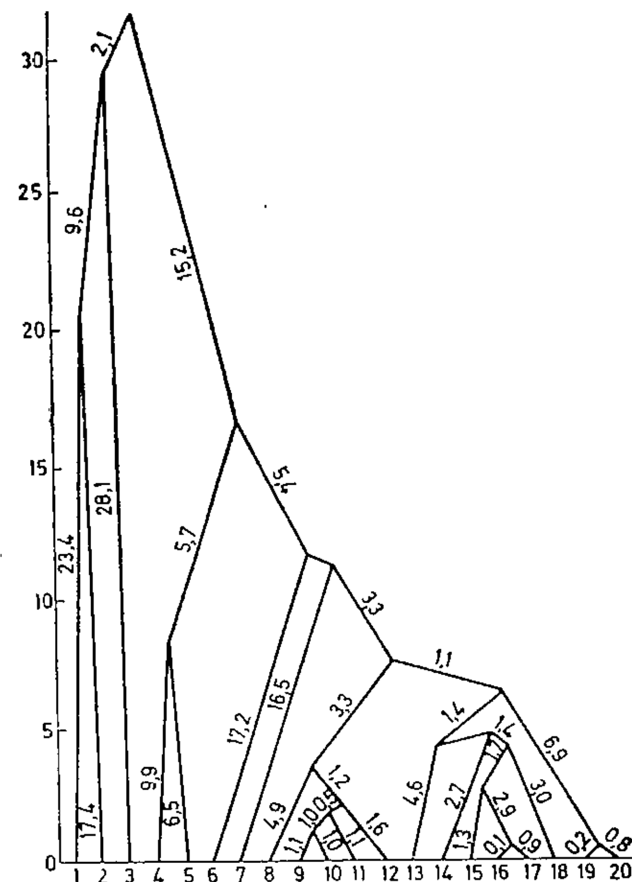


Fig. 101. Arborele filogenetic bazat pe secvența aminoacizilor citocromului c în diferite specii. Fiecare număr de pe figură reprezintă numărul minim estimat de nucleotide care trebuie să fie modificat pentru ca gena pentru un citocrom să codifice alt citocrom (după Fitch și Margoliash, 1967).

1. candida.
2. saccharomyces.
3. neurospora.
4. molie.
5. vierme.
6. tuna.
7. șarpe.
8. broască țestoasă.
9. pinguin.
10. găină.
11. curcan.
12. porumbel.
13. cangur.
14. iepure.
15. porc.
16. măgar.
17. cal.
18. cîine.
19. maimuțe.
20. om.

Tabelul 56

Rata medie de substituire a aminoacizilor (substituții acceptate) în evoluția mamiferelor (după Aeby și Wyss, 1978)

Proteina	Rata medie de substituire a aminoacizilor/100 codoni/10^8 ani
Citocrom C	3
Tripsinogen	5
Lizozim	10
Mioglobină	13
Hemoglobină — lanțul alfa	20
Hemoglobină — lanțul beta	23
Hormon de creștere	32
Ribonuclează	25
Fibrinopeptidul A	43
Carboanhidraza I	8,7
Carboanhidraza II	19,5

La fel de concludent este exemplul următor dat de Kimura (1979). El a studiat numărul de substituții de aminoacizi în lanțul alfa și în lanțul beta uman și în lanțul alfa al crapului și în lanțul beta uman.

Tabelul 57

Numărul de substituții în lanțul alfa și în lanțul beta uman și în lanțul alfa de crap și în lanțul beta uman (după Kimura, 1979)

Tipul de modificare	Alfa uman beta uman	Alfa crap beta uman
Nici o modificare	62	61
Un nucleotid	55	49
Două nucleotide	21	29
Adiția sau deleția unui aminoacid	9	10
Total	147	149

Acest fenomen poate fi înțeles mai clar dacă se folosește conceptul de perioadă de unitate evolutivă. Ea este egală cu o schimbare de 1% din totalul numărului de aminoacizi. Această unitate este de 1 milion de ani pentru fibrinopeptide, ceva mai puțin de 6 milioane de ani pentru hemoglobină și de 20 de milioane de ani pentru citocromul c.

Diferențele de ritm nu sînt condiționate de numărul mutațiilor (el este teoretic același), ci de rata mutațiilor tolerate, adică de numărul de mutații care nu alterează drastic configurația moleculei — mutațiile incompatibile cu funcția moleculei sînt eliminate.

Cele mai multe dintre mutații vor dispărea în cîteva generații. Întîmplător o parte dintre ele se vor fixa și în timp vor înlocui alelele vechi. Polimorfismul constituie astfel o etapă a evoluției moleculare.

Rata uniformă de mutații nu poate avea decît o singură explicație: mutațiile care se fixează sînt neutre selectiv. Cu alte cuvinte, evoluția moleculară scapă controlului selecției naturale. De aceea King și Jukes (1974) i-au dat numele de evoluție ne-darviniană. După Kimura și Ohta (1974), principiile acestei evoluții sînt:

— rata de evoluție a proteinelor — numărul de substituții dintr-un codon — este constantă pe an și pe sit pentru fiecare proteină, în diferite linii evolutive;

— duplicația genelor constituie evenimentul primar în evoluția moleculară;

— evoluția genei, ca întreg, este variabilă; unele situri pot suferi mutații iar altele nu; cele care alterează funcția moleculei apar mai rar decît cele care o mențin.

Primul dintre cele trei puncte reprezintă fundamentul întregii teorii. Dacă teoria este corectă, atunci se impune o reconsiderare a rolului selecției naturale. Este evident că rata de mutație nu poate fi constantă decît în cazul în care mutațiile se fixează fără intervenția selecției naturale, independent deci de toate modificările mediului ambiant. Ca atare, majoritatea mutațiilor incluse în rezervorul genetic al speciilor sînt neutre. Ohta susține că în asemenea circumstanțe selecția intervine doar pentru a proteja mutațiile și deci și moleculele formate.

Polimorfismul are și el o nouă explicație. Conform concepției selecționiste, polimorfismul este consecința selecției naturale. În spiritul teoriei neutraliste, polimorfismele sînt produsul exclusiv al mutațiilor și al proceselor genetice întîmplătoare. Ca atare, polimorfismul este considerat „doar o fază a evoluției moleculare, prezent la toate speciile, chiar la microorganisme, la care nu există un avantaj al heterozigoților (bacteriile sînt „haploide" (Kimura, 1979). În sprijinul acestei explicații Kimura aduce o observație deosebit de importantă: există o corelație între polimorfism și greutatea moleculară a

subunităţilor proteinei. Cu cît o proteină are o greutate moleculară mai mare, deci mai mulţi aminoacizi, cu atît numărul teoretic al substituţiilor este mai mare. Implicit creşte şi numărul alelelor. Fac excepţie însă proteinele constituite din subunităţi codificate de gene independente, deoarece multe mutaţii sînt incompatibile cu funcţionarea proteinei şi sînt eliminate.

Teoria ne-darviniană nu exclude rolul selecţiei naturale. Este cert că o serie de mutaţii (Hb S, deficienţa G-6-PD) s-au menţinut pentru că oferă purtătorilor un avantaj selectiv.

Mai complicată este relaţia dintre evoluţia moleculară şi transformările morfologice. Teoria ne-darviniană susţine că toate caracterele morfologice şi fiziologice sînt adaptative. Afirmaţia este sprijinită de argumente mai mult sau mai puţin convingătoare. Dar Nei (1975), apărînd teoria evoluţiei ne-darviniene, observa că relaţia dintre un caracter oarecare şi *fitness*-ul purtătorilor într-un mediu dat este necunoscută. Mai mult, la drosofilă unele caractere morfologice sînt neutre. In sfîrşit, persistenţa unui caracter sau supravieţuirea extrem de îndelungată a unei specii nu exclud evoluţia moleculară. Mutaţiile apărute nu au modificat însă caracterele morfologice.

Pe aceeaşi linie de gîndire, Lewontin (1978) reamintea că multe schimbări sînt rezultatul creşterii diferenţiale a organismului: a alometriei sau a pleiotropiei.

Teoria lui Kimura a dat o nouă dimensiune evoluţionismului. Dar ea a suscitat şi continuă să suscite numeroase discuţii contradictorii. Harris (1975) credea că problemele polimorfismului au fost puse eronat. Nu toate polimorfismele sînt rezultatul selecţiei naturale, după cum nu toate ar putea fi produsul proceselor genetice întîmplătoare. Întrebarea corectă ar fi: cîte polimorfisme sînt menţinute de selecţia naturală şi cîte de procesele genetice întîmplătoare. Răspunsul ar fi simplu dacă s-ar dovedi că variantele enzimatice sînt similare sau deosebite funcţional. Prima ipoteză — nu există nici o diferenţă funcţională — ar întări ipoteza ne-darviniană. Cea de-a doua posibilitate ar susţine teoria selecţionistă. Studiile făcute pînă acum nu sînt concludente, deoarece au fost realizate *in vitro* în condiţii care nu reflectă fidel funcţia *in vivo*. Doar studiul citocromului c a dus la concluzia că fiecare citocrom are particularităţi funcţionale.

S-a remarcat apoi că, după toate probabilităţile, proteinele nu pot fi folosite ca ceasornice biologice. Conform datelor biologiei moleculare, omul şi cimpanzeul s-au separat acum

3—4 milioane de ani. Or, paleoantropologia demonstrează că ramificarea a avut loc cu cel puţin alte cîteva milioane de ani în urmă.

Apoi ceasornicul biologic plasează separarea platirinelor şi a catarinelor în urmă cu 35 de milioane de ani. Datele paleoantropologiei fixează acelaşi proces acum 50—55 de milioane de ani.

Există şi alte discrepanţe care au impus reconsiderarea semnificaţiei evolutive a modificărilor proteice. Astfel, este cert că rata de substituţie nu a fost uniformă în toate proteinele. Apoi rata de evoluţie pare să fi fost mai rapidă în etapele timpurii ale evoluţiei, atunci cînd proteinele nu erau atît de bine integrate şi coadaptate. Ulterior, cînd proteinele au atins un anumit nivel de adaptare, rata de substituţie a diminuat.

În concluzie, se poate afirma că teoria ne-darviniană a evoluţiei nu înlocuieşte darvinismul în accepţia lui modernă. Îl completează demonstrînd că evoluţia este un proces complex care prezintă încă incertitudini.

Se poate conchide că linia *Homo* a apărut printr-un accident cromozomal. Transformările evolutive ulterioare au fost condiţionate de duplicaţii. Mutaţiile genice au contribuit doar la diversificarea populaţiilor. Se poate admite mai departe că omul şi antropoidele actuale au un număr oarecare de gene similare, proporţional cu distanţa filogenetică. Între om şi cimpanzeu ar trebui să existe o asemănare mult mai mare decît între om şi gibon. Studiul comparat al secvenţei aminoacizilor în mai multe proteine ale omului şi ale cimpanzeului au demonstrat că similitudinile sînt neaşteptat de mari.

Aşa cum se vede din tabelul 58, diferenţele dintre om şi cimpanzeu sînt minime. În medie, 99% dintre aminoacizi sînt identici în polipeptidele omului şi ale cimpanzeului.

O concluzie asemănătoare a impus şi cercetarea prin hibridare a lanţurilor de ADN ale celor două specii, tehnică ce permite stabilirea gradului de asemănare a filamentelor de ADN din specii diferite. Procentul de secvenţe nucleotidice diferite este doar de 1,1%. Valoarea este mai mică decît cea dintre două specii de drosofilă sau de şoarece. (tab. 59).

Pornind de la aceste date, s-a calculat distanţa filogenetică dintre om şi cimpanzeu. Ea este doar de 25—60 de ori mai mare decît cea dintre marile „rase“ umane. Iar între fiecare din marile rase şi cimpanzeu rămîne aceeaşi. Distanţa este, astfel, similară celei dintre două specii surori.

Tabelul 58

Diferențele în secvențele aminoacizilor în polipeptidele omului și ale cimpanzeului (după King și Wilson, 1975)

Proteina	Diferențele în aminoacizi	Siturile de aminoacizi
Fibrinopeptide A și B	0	30
Citocrom c	0	104
Lizozom	0	130
Hemoglobină-lanțul alfa	0	141
Hemoglobină-lanțul beta	0	146
Mioglobină	1	153
Anhidraza carbonică	3	264
Albumina serică	6	580
Transferine	8	647

Tabelul 59

Compararea secvenței nucleotidelor în cîteva specii (după King și Wilson, 1975)

Speciile comparate	Procentul de secvențe diferite în filamentul de ADN	Încadrarea taxonomică
Om și cimpanzeu	1,1	familie
Două specii de șoarece	5	specie
Două specii de broaște	14	specie
Două specii de drosofilă	19	specie

S-au studiat apoi secvențele aminoacizilor unor proteine ale omului, ale cimpanzeului și ale gorilei. In mai multe proteine secvențele sînt identice.

Evident, la nivelul genelor diferențele sînt mai mari decît la nivelul proteinelor, deoarece unii codoni sînt redundanți.

Pentru a se explica discrepanța dintre similitudinile genetice și deosebirile morfologice s-a presupus că cele mai importante modificări genetice cu valoare evolutivă au avut loc în genele reglatoare, nu în cele structurale. Ipoteza este sprijinită de faptul că există diferențe mai mari între ADN-ul satelit decît între ADN-ul unic al cromozomilor speciilor de antropoide apropiate. Or, ADN-ul satelit pare să controleze activitatea genelor structurale.

REMARCI FINALE

Evoluționismul de tradiție darviniană admite deci că transformarea speciilor a reclamat frecvent intervenția selecției naturale. Ea este cea care a asigurat în cele din urmă adaptarea organismelor la mediu. Lewontin (1978), care a analizat mecanismul genetic al adaptării, observa că explicațiile obișnuite — indiferent dacă aparțin evoluționismului clasic sau celui de coloratură ne-darviniană — nu sînt suficiente. El arăta că evoluția nu poate fi considerată drept un proces de adaptare pentru că speciile nu pot supraviețui decît dacă sînt adaptate. Și, firește, sînt. Deci evoluția nu înseamnă o adaptare mereu mai bună la mediu. Atunci ce se întîmplă în cursul evoluției? Un răspuns satisfăcător a fost adus de Leigh Van Valen. El a studiat rata de dispariție a multor genuri de Echinoidea (nevertebrate marine) și a ajuns la concluzia că rata de extincție este similară în toate genurile, indiferent de lungimea perioadei de supraviețuire. Un asemenea fenomen pare paradoxal, deoarece, teoretic, șansele de supraviețuire ale unei specii sînt direct proporționale cu vechimea speciei — o lungă supraviețuire presupune o bună adaptare la mediu.

Pornind de la această observație, Van Valen sugerează că rolul selecției naturale nu este acela de a ameliora adaptarea la mediu, ci acela de a permite speciilor să supraviețuiască într-un mediu în permanentă transformare. Șansele de supraviețuire ale unei specii depind de variația genetică. Dacă mediul se schimbă și specia are genele care îi permit să răspundă solicitărilor mediului, supraviețuiește și eventual își extinde arealul de distribuție. Dacă specia nu are genele necesare, ea dispare. Evident, variabilitatea genetică a unei specii este limitată; implicit este limitat și potențialul ei adaptativ. Încît mai devreme sau mai tîrziu, atunci cînd modificările mezologice vor depăși o anumită amploare, speciile vor dispărea. Probabil datorită permanentelor restructurări ambiante și numeroaselor remanieri genetice evoluția a fost atît de rapidă. Din cambrian, de acum 600 de milioane de ani, au apărut și au dis-

părut aproximativ 2 miliarde de specii — 99,9% din totalul speciilor pe care le-a cunoscut Pămîntul. Acum există aproximativ 2 milioane de specii, printre care şi specia *Homo sapiens*.

Această teorie are meritul de a explica şi evoluţia umană. Ea a fost posibilă, deoarece de la început populaţiile de hominide au ocupat regiuni întinse. Schimbările de mediu au antrenat extincţia unora şi evoluţia altora.

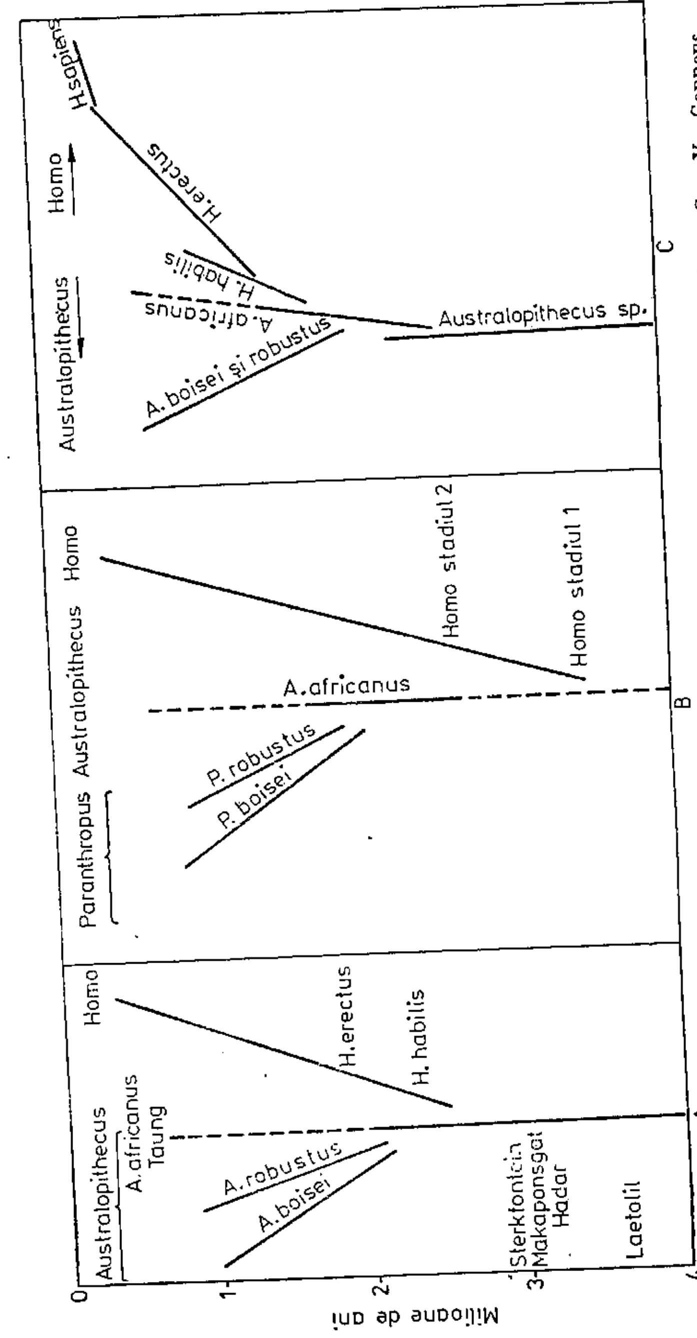


Fig. 102. Ipoteze asupra filogenezei omului (după: A = P. V. Zobas; B = R. E. F. Leakey; C = Y. Coppens. Din Thomas şi Bonnefille, 1977).

Craniul este un mozaic de caractere vechi și noi. Mandibula reflectă, de asemenea, tendințele evolutive — are dimensiuni mai mici decît ale australopitecilor, a început reducerea celui de al treilea molar, și, surprinzător, apare o schiță de menton; regiunea anterioară a mandibulei începe să se lărgească.

HOMO ERECTUS

Sub acest nume au fost incluse numeroase fosile care în antropologia clasică aveau statut de specie: *Pithecanthropus erectus*, *Sinanthropus pekinensis*, *Atlanthropus mauritanicus*, *Homo heidelbergensis*. Uneori toate fosilele incluse în specia *Homo erectus* sînt denumite *Archanthropine*.

Homo erectus a apărut mult mai timpuriu decît s-a presupus pînă acum. Cele mai vechi resturi fosile descoperite în estul Africii au aproape 2 milioane de ani. O vechime comparabilă au și fosilele găsite la Modjokerto (Indonezia). Cele mai vechi resturi fosile umane descoperite în China la Lantian au 1,5 milioane de ani, tot atît cît au și primele urme ale lui *Homo erectus* descoperite în Europa — la Sandalja I.

În asemenea condiții este greu de spus unde s-a format această specie. De la început pare să fi avut o foarte mare distribuție geografică. În orice caz, a persistat cel puțin 1,5 milioane de ani. Fragmentul de os frontal și fragmentul de os occipital descoperite la Bilzingsleben (R. F. Germania) au doar 300 000—350 000 de ani. Nu ar fi însă exclus ca *Homo erectus* să fi supraviețuit pînă acum 125 000 de ani, așa cum sugerează resturile fosile descoperite în estul Africii — la Gomboré II și pe marginile lacului Baringo, de către Leakey și colaboratorii lui în 1970. Este cert că primii reprezentanți ai acestei specii au fost contemporani cîteva sute de mii de ani cu australopitecii și cu *Homo habilis*, iar ultimele grupe cu primele populații de anteneandertalieni.

Populațiile de *H. erectus* prezintă numeroase asemănări și mici deosebiri, firești pentru o specie care a ocupat o mare parte a Lumii Vechi și care a supraviețuit atît de mult timp.

Tendințele evolutive s-au accentuat. Capacitatea craniană a crescut, oscilînd între 775 cm^3 și 1 225 cm^3. Înălțimea corpului pare să fi fost, în medie, 160 cm. Craniul era lung și îngust (hiperdolicocran), scund, cu fruntea puternic înclinată și cu creastă occipitală (torus occipital) puternică. Torusul

supraorbitar era, de asemenea, puternic dezvoltat. Craniul surprinde prin grosimea oaselor, considerabil mai mare decît a predecesorilor lui și decît a populațiilor care îi vor succeda. Fața era aplatizată dar prognată, mandibula era puternică și retrasă. Dinții erau încă relativ mari.

Scheletul postcranian era de tip modern, într-o evidentă contradicție cu craniul.

Prin caracterele lor morfologice, indivizii găsiți la Modjokerto — *Homo erectus modjokertensis* — și cel descoperit la Lantiane sînt mai aproape de *H. habilis*.

Homo erectus pekinensis este ceva mai evoluat: are capacitatea craniană mai mare, fața mai dreaptă, occipitalul mai rotunjit.

Și mai evoluat pare să fi fost individul descoperit la Vértesszöllös (Ungaria). Fragmentul de occipital găsit, deși păstrează trăsăturile generale ale lui *H. erectus*, prezintă și particularități care îl apropie de anteneadertalieni. Capacitatea lui craniană pare să fi fost mare: 1325—1463 cm^3.

Poziția filogenetică a acestei specii a fost la un moment dat contestată de Leakey. După părerea lui, *H. erectus* nu ar fi fost decît un capăt de linie, o tentativă de umanizare eșuată. Acum însă toți antropologii sînt de acord că *H. erectus* a fost inelul de legătură dintre hominidele primitive și populațiile ulterioare.

Odată cu *H. erectus* începe istoria umană a Asiei și Europei.

ANTENEANDERTALIENII

Dacă poziția filogenetică a lui *H. erectus* pare bine stabilită, evoluția ulterioară pînă la apariția omului de tip actual este plină de incertitudini. Nesiguranța este generată de diversitatea morfologică a resturilor fosile descoperite în diverse colțuri ale lumii. Ceea ce pare relativ cert este că evoluția lui *H. erectus* a avut un caracter local. Și în Europa, și în Asia, și în Africa s-au descoperit resturi fosile mai evoluate decît *H. erectus*. În nordul Africii, de pildă, evoluția umană a început cu specia descoperită la Ternifine — *Homo erectus mauritanicus* și a continuat cu forme din ce în ce mai evoluate pînă la *Homo sapiens sapiens*.

Un fenomen similar a avut loc și în China. Istoria hominidelor poate fi urmărită de-a lungul a 2 milioane de ani:

de la *H. erectus* descoperit la Lantian, la populațiile cu caractere intermediare, vechi și noi, similare individului găsit la Changyang — și care are o vechime de aproximativ 300 000 de ani continuînd cu populațiile cu trăsături asemănătoare neandertalienilor, și ajungînd la *H. sapiens sapiens* cunoscut, printre altele, prin celebrele cranii de la Choukoutien, de lîngă Beijing.

O succesiune asemănătoare poate fi urmărită și în Europa și în Orientul Apropiat. Dar polimorfismul morfologic este atît de accentuat, încît este foarte greu să se clasifice resturile fosile cunoscute.

Populațiile care și-au făcut apariția în urmă cu aproximativ 300 000 de ani au fost numite anteneandertalieni (Lumley și Lumley, 1973) (nume pe care îl vom utiliza și noi) sau pre-musterieni (Clark, 1971) sau paleantropine.

S-a discutat și continuă să se discute în antropologie dacă anteneandertalienii formează o singură specie sau dacă nu cumva alcătuiesc un grup de specii cu destine evolutive diferite. Părerile au fost și rămîn împărțite. După părerea lui Jelinek (1969), părere împărtășită și de alți antropologi, în interglacialul mindel-riss și după aceea, pînă acum aproximativ 50 000 de ani, a existat o singură specie cu numeroase populații locale care aveau multe caractere morfologice fundamentale similare și care se deosebeau prin intensitatea și frecvența altora.

Deosebirile dintre populații nu ar fi fost mai mari decît diferențele dintre populațiile contemporane.

La o concluzie similară ajunge și Feustel (1976). Cei mai mulți antropologi nu sînt însă de acord cu acest punct de vedere. După părerea lor, în această perioadă ar fi trăit populații cu destine evolutive diferite.

Una dintre ele este reprezentată de neandertalienii clasici din vestul Europei. Se crede că această populație din Würmul timpuriu reprezintă sfîrșitul unei linii evolutive. Pare să fie așa, deoarece neandertalienii clasici se disting printr-o structură morfologică relativ primitivă: frunte puternică (torus supraorbitar proeminent) și fugindă, torus occipital evident, orbite voluminoase și rotunde, nas larg, mandibulă robustă cu bărbie negativă trasă înapoi și fără trigon mental. Restul scheletului este modern, chiar dacă se deosebește prin cîteva particularități de cel al omului actual.

Ceilalți anteneandertalieni au fost grupați în trei categorii:

— forme intermediare între *H. erectus* și neandertalieni, în care intră craniile descoperite la Arago (Franța), Swanscombe (Marea Britanie), Saccopastore (Italia);

— forme intermediare între neandertalieni și *H. sapiens sapiens*, care sînt reprezentate de craniile de la Steinheim (R. F. Germania) și Fontéchevade (Franța);

— forme intermediare între *H. erectus* și *H. sapiens sapiens*, reprezentate prin occipitalul de la Vértesszöllös (Ungaria) și probabil prin mandibula descoperită la Montmaurin (Franța).

Firește, schema de față constituie doar un punct de vedere — cel al lui Saban (1977).

Există și alte ipoteze la fel de plauzibile. De pildă, Heberer (1950) presupunea că neandertalienii clasici sînt descendenții unui grup preneandertalian cunoscut prin craniile de la Saccopastore și Krapina, iar *H. sapiens* — urmașul unui grup presapiens reprezentat de craniile de la Swanscombe, Fontéchvade și Steinheim.

Locul de formare al lui *H. sapiens sapiens* continuă să rămînă o necunoscută. Se poate presupune că el s-a format independent în mai multe zone prin evoluția locală a anteneandertalienilor. În China istoria umană poate fi urmărită de-a lungul a aproximativ 2 milioane de ani, de la *H. erectus* la omul actual. O continuitate similară există și în Asia de sud-est, în Africa și în Europa.

Oricum, acum 40 000 de ani *H. sapiens sapiens* era deja format. Nu este deloc exclus însă ca primele populații *sapiens sapiens* să fie mult mai vechi.

Asia a constituit un centru de unde au migrat populațiile care au cucerit America — în urmă cu cel puțin 30 000—40 000 de ani, dacă nu cumva cu alte 30 000 de ani mai înainte — Australia și Borneo — acum 40 000 de ani, Noua Guinee acum 26 000 de ani, Tasmania acum 18 500 de ani, Melanezia acum 12 000 de ani și Polinezia și Micronezia abia acum 1 000 de ani.

În evoluția hominidelor au existat astfel numai trei specii: *Homo habilis* sau o specie similară, *Homo erectus* și *Homo sapiens*. În spiritul acestei concepții, anteneandertalienii și oamenii de tip actual aparțin unei singure specii. Chiar și neandertalienii clasici sînt incluși deseori în specia *Homo sapiens*.

RASELE UMANE

Foarte mult timp s-a crezut că specia *Homo sapiens* este politipică (constituită din mai multe rase). Presupunerea părea plauzibilă, deoarece între populațiile umane există diferențe mai mult sau mai puțin evidente. Clasificarea lor, una dintre marile teme ale antropologiei clasice, a ridicat întotdeauna probleme deosebit de dificile. Mai întîi trebuie explicat conceptul de rasă.

În spiritul antropologiei clasice rasa este un grup natural de oameni care prezintă un ansamblu de caractere fizice ereditare comune, indiferent de limba lor, de obiceiurile lor sau de naționalitatea lor (Vallois, 1963). Deci o rasă include una sau mai multe populații care ocupă un teritoriu nedefinit. Membrii rasei prezintă un număr de similitudini, deoarece provin dintr-un grup ancestral comun.

Sub influența geneticii a apărut tendința de a considera rasa doar „o noțiune statistică: eliminînd caracterele anormale și diferențele strict individuale, ea traduce pur și simplu existența, la un moment dat și într-o anumită zonă geografică, a unei concentrații de caractere fizice particulare prezente la un număr important de indivizi“ (Marquer, 1967).

Pentru Boyd (1950), rasa este o unitate de reproducere care diferă de celelalte unități prin frecvența uneia sau mai multor gene.

O rasă se distinge deci printr-o anumită constelație de caractere morfologice (fenotipice), expresie a unei structuri genetice. Nu a existat însă niciodată în istoria raseologiei un consens asupra caracterelor care trebuie studiate. În general s-au cercetat doar cîteva caractere: pigmentație, forma capului, a feței, a nasului, înălțime.

În funcție de criteriul folosit, specia *Homo sapiens* a fost divizată în trei sau patru rase majore — europidă, negridă, mongolidă și australidă — și într-un număr considerabil de rase secundare. În clasificarea lui Vallois există 4 rase majore și 27 de rase secundare. După von Eickstedt ar exista 3 rase majore și peste 50 de rase secundare.

Raseologia a avut un dublu scop: să clasifice diversitatea umană și să reconstituie istoria populaților.

Rasa ca atare era o explicație. O populație oarecare are anumite caractere, deoarece aparține unei rase și nu deoarece a fost supusă unor circumstanțe evolutive particulare.

Așa cum era firesc, raseologia a fost violent criticată. Ea a pornit de la premisa că inițial au existat rase „pure“, adică rase constituite din indivizi homozigoți pentru toți locii sau cel puțin pentru marea lor majoritate. Evident, nu au existat niciodată asemenea populații.

Raseologia a ignorat variabilitatea genetică a populațiilor. În toate populațiile umane există un polimorfism morfologic accentuat care este expresia unui rezervor genetic particular și nu a amestecului cu diverse rase, așa cum se admite tradițional în raseologie.

Caracterele „rasiale“, forma capului, a feței sau înălțimea sînt condiționate poligenic, sau cel puțin așa se presupune. Ca atare, ele implică un coeficient genetic mai mult sau mai puțin important. Este cert că înălțimea sau indicele nasal variază clinal: înălțimea crește cu latitudinea și în America și în Europa și în China iar indicele nasal crește paralel cu umiditatea mediului ambiant. Apoi, așa cum am arătat mai înainte, înălțimea a crescut cu mulți centimetri în ultimul secol, ca o consecință a ameliorării condițiilor social-economice.

În sfîrșit, din rațiuni mai puțin clare, există o tendință aproape generală de brahicefalizare.

Pigmentația a fost considerată una dintre cele mai evidente caracteristici rasiale. În funcție de culoarea pielii, populațiile umane au fost împărțite în rase albe, galbene și negre. Intensitatea pigmentației este condiționată de melanină și de caroten, îndeosebi de melanină. Studiul prin reflectometrie al pigmentației a arătat că există o considerabilă variabilitate printre indivizii aceleiași rase și, ca oricare alt caracter cantitativ, are o distribuție gaussiană. Dacă se cercetează mai multe populații învecinate se constată că pigmentația are o variație continuă. Populațiile cele mai pigmentate se găsesc în zona intertropicală, la sud de Sahara, în India și în Melanezia, iar cele mai puțin pigmentate în nordul Europei. Această distribuție particulară sugerează presupunerea că pigmentația este un caracter adaptativ. Ca atare, deși semnificația adaptativă a caracterului este încă discutabilă, pigmentația nu poate fi considerată drept un caracter rasial.

Raseologia tinde să dispară. Numărul cercetărilor de antropologie fizică tradițională a diminuat considerabil în ultimul deceniu. Și odată cu raseologia dispare și conceptul de rasă.

Studiul raselor va fi înlocuit cu studiul genetic al populațiilor. Se va cerceta frecvența și distribuția geografică a caracterelor condiționate monogenic (cu transmitere mendeleană), așa cum sînt antigenii eritrocitari, proteinele serice, enzimele sangvine. Pînă acum doar cîteva au fost studiate în suficient de multe populații. Cele mai bine cunoscute sînt grupele sangvine AB0. Inițial s-a crezut că frecvența lor diferă semnificativ de la o populație la alta. Acum este cert însă că, făcînd abstracție de cîteva triburi amerindiene, care au numai grupa sangvină 0, nu există deosebiri majore între populații.

Cercetarea sistematică a sistemului Rh a adus informații mult mai concludente. Acest sistem este format din antigenii Cc, D, Ee, condiționați de genele C sau c, D sau d — ultima genă nu produce nici un antigen — și E sau e. Se cunosc numeroși alți antigeni — C^w, D^u, ... Antigenii se transmit în grupuri de cîte trei. Sînt astfel posibile opt variante: cDE, CDe, cdE... Se pare că inițial au existat doar trei forme: Cde, cde și cDE. Prezența antigenului major D asigură specificitatea reacției (Rh+).

Frecvența haplotipurilor variază considerabil de la o populație la alta. Populațiile din Africa neagră se disting prin preponderența cromozomului cDe, adică a unui haplotip format prin recombinare. Această observație a sugerat ipoteza că populațiile negre africane s-ar fi format relativ recent dintr-un grup de fondatori. Cromozomul cde este frecvent în populațiile europene și în cele sud-sahariene dar este rar în populațiile din Extremul Orient, printre amerindieni și în populațiile din Oceania. Dacă este adevărat că haplotipul cde este primitiv, atunci populațiile europene sînt mai vechi decît cele din Extremul Orient. Deocamdată este o simplă supoziție.

Studiul antigenilor Gm a scos în relief cîteva concluzii:

— antigenii populațiilor amerindiene și oceanice sînt similari cu cei ai populațiilor asiatice, o nouă dovadă a originii lor comune;

— populațiile din Africa neagră au o compoziție antigenică particulară care le deosebește de restul populațiilor;

— asiaticii au o diversitate antigenică considerabilă, mult mai mare decît a populațiilor europene;

— puține populații au o structură antigenică caracteristică. Ainu au doar trei antigeni — 2, 17, 21, — antigeni nedescoperiți la alte populații.

După datele sumarizate de Hiernaux (1977), Europa se distinge printr-o accentuată variabilitate a sistemului Rh și printr-o relativă uniformitate a sistemului Gm.

Asia este ocupată de populații extrem de diferite — mongoli în Siberia și Extremul Orient, cu aspect european în Orientul Mijlociu, cu pigmentație închisă în pădurile Malaieziei, pigmei în insulele Andamane. Acestui polimorfism morfologic îi corespunde un remarcabil polimorfism genetic.

Africa poate fi împărțită în două: Africa albă, din regiunile nord-sahariene, legată istoric de populațiile europene din Orientul Mijlociu, și Africa sud-sahariană constituită din populații deosebite. La o extremă sînt pigmeii din bazinul fluviului Congo, iar la cealaltă niloticii a căror înălțime medie depășește 180 cm. Un loc aparte a fost rezervat boșimanilor, populație cu înălțime mică, cu pigmentație mai curînd deschisă și, caracteristic, cu steatopigie. Geneza acestor populații este obscură. N-ar fi exclus să fie produsul unei îndelungate evoluții locale, o parte, și a unor migrații relativ recente, altă parte. Datele geneticii sînt contradictorii. Sistemul Rh sugerează ideea că populațiile negre africane au apărut relativ recent, în timp ce distribuția antigenului Gm sprijină presupunerea că aceleași populații s-au diferențiat de mult.

America a fost cucerită acum 35 000 de ani, dacă nu cumva acum 70 000 de ani de grupuri de vînători și pescari asiatici. După ce au trecut strîmtoarea Behring s-au îndreptat spre sud, adaptîndu-se la condiții de mediu extrem de variate, care explică actuala diversitate a populațiilor amerindiene. Astfel, populațiile din pădurile tropicale au o înălțime relativ mică și o pigmentație mai închisă iar eschimoșii din nord au talie scundă și depozite adipoase importante.

Sub raport genetic, amerindienii au pierdut numeroase gene, fie prin efectul fondatorului, fie prin procese genetice întîmplătoare.

Australia a fost populată în urmă cu aproximativ 20 000 de ani de mici grupe asiatice. Ei au supraviețuit în condiții de izolare, fapt care a dus la o oarecare diminuare a heterozigoției.

În concluzie, se poate spune că rasele nu sînt realități biologice. Ele nu pot fi definite pe baza unor caractere somatice, puternic influențate de mediu și nici pe baza datelor pe care le oferă genetica contemporană. O dovadă o constituie faptul că rasa „există" ca atare numai în funcție de criteriul folosit. Cu alte criterii își pierde identitatea. Apoi, cu excepția cîtorva

populații izolate din Australia sau America de Sud, nu se pot contura ariile de răspîndire ale raselor. Indiferent de caracterele studiate există și regiuni în care valorile sînt intermediare.

Nici cercetarea caracterelor genetice nu oferă datele necesare unei clasificații. Este cert că fiecare genă poate evolua independent și se fixează fie sub acțiunea selecției naturale, fie prin procese genetice întîmplătoare. În acest fel, același caracter poate fi absent în două populații cu origini și istorii deosebite. Se poate afirma deci că studiul raselor nu mai prezintă nici un interes (Maximilian, 1966, 1972, 1975, 1980).

INGINERIA GENETICĂ ȘI GENETICA UMANĂ

Prin inginerie genetică se înțelege modificarea structurii genetice a unui organism, prin introducerea de material genetic străin aparținînd aceleiași specii sau unei specii diferite, apropiate sau îndepărtate filogenetic.

Ingineria genetică, numită uneori manipulare genetică, este rezultatul unui lung șir de realizări remarcabile: descoperirea naturii materialului genetic; descoperirea mecanismului de sinteză al proteinelor; descoperirea enzimelor de restricție; descoperirea tehnicilor de secționare și de recombinare a ADN-ului; sinteza artificială a genelor; descoperirea transcriptazei inverse și a clonării genelor într-o plasmidă sau într-un oocit de broască (în etapa actuală).

Sub raport strict genetic, ingineria genetică poate fi considerată o formă de hibridizare (Cavalli-Sforza, 1978). Este însă o formă cu totul nouă, deoarece implică transferul uneia sau unor gene pe care celula receptor nu le-ar fi sintetizat niciodată. Este o formă de hibridizare, deoarece schimbul de gene între organisme din specii apropiate este un fenomen frecvent care reclamă aceleași elemente ca și ingineria genetică (enzime restrictive, ligaze, captarea ADN-ului străin...).

Un rol important de-a lungul întregului proces îl au enzimele de restricție. Sînt enzime prezente în toate organismele studiate pînă acum și, după toate probabilitățile, fac parte din universul genetic al tuturor organismelor. Ele au rolul de-a apăra integritatea organismului de orice interferență străină. Mai exact, ele pot inciza filamentele de ADN străin fie în jurul axului central de simetrie, ca enzima Eco I, extrasă din *Escherichia coli*, fie în centrul secvenței, ca R Hind II sau R Hpa I — extrase din *Haemophilus influenze* și respectiv din *Haemophilus parainfluenze*. De pildă, endonucleaza Eco



Fig. 103. Secvența de nucleotide recunoscută și secționată de Eco RI.

RI secționează filamentele de ADN ori de cîte ori întîlnește secvența din fig. 103 (secționarea are loc în dreptul săgeții).

Transferul materialului genetic în bacterie presupune prezența unui vector. Drept vector se folosesc, de cele mai multe ori, plasmidele, structuri circulare ADN, prezente în număr variabil la procariote. Plasmidele conțin cîteva gene implicate îndeosebi în rezistența la antibiotice. Aceste formațiuni lipsesc la eucariote. Locul lor este luat de organelele ADN — mitocondriile. Se utilizează plasmide naturale sau hibride, rezultate din fuzionarea a două fragmente din plasmide diferite. Plasmidele se extrag din bacterii prin centrifugare. Apoi sînt secționate în puncte specifice de către enzimele de restricție. Între extremitățile libere se inserează materialul care urmează a fi transferat. Extremitățile libere trebuie unite. Unirea depinde de natura enzimelor folosite. Unele enzime restrictive lasă extremități care se unesc greu spontan. De aceea se folosesc enzime particulare — polinucleotidil-terminal-transferaza — care adaugă la fiecare dintre extremități nucleotidepoli dA (polimer al adenozinei) și poli dT (polimer al timidinei). Cele două extremități se unesc pe principiul complementarității.

Alte tipuri de endonucleaze lasă capete coezive care se unesc ușor în prezența ligazelor celulare.

În unele cercetări de inginerie genetică în locul plasmidelor se utilizează bacteriofagii, virusuri, care infectează bacteriile și care își integrează materialul genetic în cromozomul celulei gazdă. Odată integrat, materialul genetic viral se multiplică paralel cu cromozomul bacterian. După un număr de diviziuni, bacteriofagii se desprind din cromozomi, distrug celula și infectează noi bacterii. Ca și plasmidele, fagii pot fi manipulați genetic. Bacteriofagii transformați infectează apoi bacterii specifice, de pildă bacteriofagul delta infectează *Escherichia coli*.

Gazdă, cel puțin în cercetările actuale, este o linie de *E. coli* care nu mai are proprietăți patogenice. S-au recomandat și alte gazde, îndeosebi *Bacilul subtilis*, care nu este patogen.

Rata de transformare este destul de mică deși membrana celulară este permeabilizată cu $CaCl_2$.

Obținerea genei specifice rămîne partea cea mai dificilă a clonării. Acum (1980) se folosesc mai multe tehnici:

— Se scindează cromozomii într-un număr considerabil de fragmente ADN. Apoi fragmentele sînt separate în funcție de dimensiuni, prin metode diverse, îndeosebi prin electroforeză pe gel de agar-agar și identificate prin hibridare cu ARN sau ADN marcat. Identificarea unei singure gene în masa de ADN este extrem de dificilă. Cu toate acestea s-au realizat primele „genoteci";

— Selecționarea ADN-ului în fragmente scurte de 100—200 de baze care pot fi identificate relativ ușor.

Utilizarea fragmentelor de ADN naturale impune eliminarea intronilor, prezenți numai în genele eucariotelor;

— Izolarea unui ARNm specific. Metoda este posibilă doar în ipoteza în care se pot obține cantități relativ mari de ARNm, din glandele cu secreție internă, de pildă. ARNm devine o matriță pe care se va sintetiza cu ajutorul transcriptazei inverse gena dată;

— Sinteza artificială a genei. Realizarea ei este posibilă dacă se cunoaște structura proteinei. Deoarece codul genetic este și el precizat se sintetizează ARNm specific și apoi ADN-ul complementar.

După transferul genelor în celule se selecționează celulele transformate.

Iată acum modul în care J. Baxter (1980) a clonat gena pentru β-endorfine. În prima etapă a izolat un lung fragment de ADN de șoarece care conținea gena pentru β MSH (*β-melanocyte-stimulating-hormone*=hormonul de stimulare al melanocitelor), gena pentru β-endorfine și o secvență cu funcție necunoscută. Apoi tot fragmentul a fost inserat în gena plasmidică ce codifică β-galactozidaza. Pentru a obține endorfine a adăugat la sfîrșitul fragmentului un codon de terminare. Gena a început să funcționeze și în celulă au apărut cîteva zeci de copii ale proteinei hibride — endorfina a fost ulterior separată de restul proteinei.

Experimental s-a dovedit că endorfina este biologic activă. După acest experiment Baxter a reușit să izoleze aceeași genă de la om. Din punct de vedere chimic cele două endorfine, cea de șoarece și cea de om, se deosebesc doar prin doi aminoacizi.

Fragmentele de ADN secționate de enzimele de restricție sau genele sintetizate artificial pot fi clonate și în oocite de broască. Oocitele au capacitatea de-a transcrie corect genele străine. S-a observat, de pildă, că oocitele broaștei cu

gheare (*Xenopus laevis*) pot transcrie ADN-ul virusului simian 40 (SV 40) sau genele care specifică ARNr 5S de la *Xenopus borealis*. Oocitele pot, de asemenea, transla ARNm purificat aparţinînd unei specii îndepărtate filogenetic — ARNm al hemoglobinei de iepure.

După obţinerea primelor gene normale s-au realizat şi gene mutante, pe două căi:

— prin alterarea structurii ADN-ului, fie prin administrarea unei substanţe mutagene, şi în acest caz mutaţia este nespecifică, fie prin intermediul enzimelor de restricţie eliminîndu-se o secvenţă specifică de nucleotide;

— prin sinteza unui ARNm modificat se substituie, se adaugă sau se elimină nucleotide. Acest ARNm este apoi copiat în ADNc.

Acest domeniu se deosebeşte fundamental de genetica clasica. Pînă la apariţia ingineriei genetice se pornea de la fenotip spre genotip, de la caracter spre genă. Uneori, descoperindu-se defectul biochimic, ca la hemoglobine, se putea preciza şi evenimentul genic primar: o substituţie, o deleţie sau o alungire a lanţului de nucleotide în urma unui *crossing-over* inegal. Datorită ingineriei genetice, acum se pleacă de la genă spre fenotip. De aceea acest cîmp de cercetare a fost numit genetica inversă. În etapa actuală ea are scopuri relativ modeste: încearcă să elucideze structura şi funcţia genelor de reglare (a promotorului, de pildă) sau rolul unor nucleotide în procesul de *splicing*. Ulterior se vor clona gene cu structură inedită, mai mult sau mai puţin apropiate de gene cunoscute.

Tehnicile de ADN recombinant vor elucida o mare parte dintre necunoscutele geneticii, cum ar fi: controlul expresiei genelor, organizarea cromozomilor, diferenţierea celulară, oncogeneza... Prin aceleaşi tehnici se vor localiza mai repede şi mai precis genele eucariotelor.

Rezultatele practice, presupunînd că se vor folosi, în continuare, drept gazde bacteriile, sînt condiţionate de numărul de copii ale genei specifice. Pentru a obţine o cantitate satisfăcătoare de proteine trebuie ca fiecare celulă să includă un mare număr de plasmide. Acest deziderat a fost atins: s-au dezvoltat suşe bacteriene care cuprind mai multe sute de plasmide. Cantitatea de proteină poate fi amplificată şi prin modificarea genelor de reglare ale gazdei în aşa fel încît genele structurale controlate de aceste gene să funcţioneze continuu. Printr-un asemenea procedeu s-au obţinut cantităţi mari de enzime — beta-galactozidază şi triptofan-sintetază.

Actualmente ingineria genetică s-a fixat pe trei probleme majore care interesează biologia umană:

— producerea de hormoni — insulină, hormon de creştere, somatostatină;

— producerea de interferon şi de antibiotice;

— producerea de vaccinuri.

În cursul anului 1980 s-au obţinut primele cantităţi de insulină umană pură. Astfel, devine posibil tratamentul raţional al diabetului zaharat. Acum se foloseşte insulină de origine animală, apropiată structural de cea umană. Ea nu este însă pură, conţine proteine care declanşează reacţii imune.

Va începe, de asemenea, producţia industrială a hormonului de creştere uman. Clonarea lui a fost deja realizată.

Deficienţa acestui hormon, condiţionată de o mutaţie recesivă autozomală, în formă homozigotă, antrenează apariţia nanismului hipofizar. Este o tulburare de creştere relativ rară. Se apreciază că în lume ar exista aproximativ 700 000 de asemenea nanici. Pînă acum se utiliza, ca tratament, hormonul de creştere uman obţinut din hipofize de cadavru. Tratamentul era eficient doar o perioadă relativ scurtă, deoarece extractul conţine proteine care induc formarea anticorpilor.

Endorfinele vor înlocui opiaceele actuale. Se pare că aceleaşi substanţe ameliorează nevrozele depresive.

Deocamdată dintre proteinele obţinute prin inginerie genetică doar interferonul, insulina şi endorfinele sînt active biologic. Hormonul de creştere şi somatostatina nu sînt active. Dar cu siguranţă vor fi.

S-ar putea ca în viitorul apropiat să se cloneze genele care specifică anumite enzime, importante pentru tratamentul unor erori înnăscute de metabolism, ca fenilalanil-hidroxilaza, enzima deficientă în fenilcetonurie sau pentru tratamentul unor inflamaţii, ca superoxid-dismutaza, o metaloenzimă extrasă din ficatul bovinelor.

Mult mai probabil se vor obţine proteine specifice pentru tratamentul de substituţie al unor tulburări ereditare. În acest grup intră şi globulina antihemofilică a cărui deficienţă determină hemofilia A. Această proteină se obţine şi acum prin fracţionarea plasmei umane, dar preţul este foarte mare.

Tot prin programarea bacteriilor se va obţine interferon, un puternic agent natural antiviral şi o serie de substanţe antitumorale, ca l-asparaginaza. Pînă acum s-a folosit doar asparaginază de origine extraumană. Dacă se va utiliza en-

zima umană atunci terapia cancerului va fi mult mai eficientă.

Drumul spre industria de vaccinuri a fost deschis de Langbeheim, Arnon și Sela (1976). Ei au remarcat că virusurile sînt inactivate dacă se folosesc anticorpi față de un mic fragment peptidic din capsulă. Prin inginerie genetică se va clona acest fragment și astfel se va putea trece la vaccinarea în masă.

De asemenea, se presupune că bacteriile vor produce anticorpi puri, necesari în egală măsură tratamentului și diagnosticului unor tulburări imunologice.

După Soria și Zeller (1978), una dintre marile speranțe ale medicinii este terapia de afinitate — îndreptarea agenților terapeutici spre celulele țintă. Concretizarea acestei speranțe este condiționată de cunoașterea mai exactă a receptorilor de membrană. Astfel, MSH-ul ar putea dirija medicamentele anticanceroase spre suprafața melanoamelor iar anticorpii împotriva gonadotrofinelor corionice umane legați de adriamicină ar orienta substanța anticanceroasă spre coriocarcinom. Domeniul este practic nelimitat.

Singurul tratament eficient al tulburărilor ereditare rămîne corectarea mutației. Teoretic este relativ simplu să se înlocuiască un nucleotid la un microorganism. Aceeași operație este încă imposibilă la om. Foarte probabil nici nu va fi realizată în acest secol. Se vor insera însă gene normale. Experiențele efectuate pe animale demonstrează că transferul de gene este posibil chiar între specii îndepărtate filogenetic. Au fost transferați cromozomi intacți și fragmente de cromozomi. Au fost transferate genele care controlează sinteza histonei la *Drosophilă* în oocitele de *Xenopus*, genele virusului SV 40 au fost injectate în embrionul de șoarece iar în măduva osoasă a șoarecelui au fost introduse genele care asigură rezistența la methrotexat, un puternic citostatic. Acestea au fost premisele primei experiențe umane. În 1980 J. Cline a administrat unor bolnavi cu β-talasemie gena pentru β-globină. Rezultatul pare să fie negativ. Experiența lui Cline a avut loc în afara Statelor Unite, deoarece acolo sînt interzise experimentele pe oameni. Cline a ales β-talasemia, deoarece tulburarea este letală în formă severă și deoarece inserția unei gene normale constituie singurul tratament eficace. Drumul a fost însă deschis. Mercola și Cline (1980) cred că în viitorul apropiat s-ar putea clona genele pentru glucocerebrozide și ca ele ar putea fi inserate în măduva osoasă a bolnavilor

cu boala Gaucher. Pe aceeași cale s-ar putea corecta și o parte dintre tulburările ereditare cutanate. Nu este exclus ca în curînd să se transfere și genele care mediază rezistența față de cancer.

Manipulările genetice vor revoluționa agricultura și zootehnia. Vor apărea specii noi de plante cu mare valoare economică. Se va ameliora conținutul în proteine al speciilor vegetale deja cunoscute; se presupune că plantele vor sintetiza și proteine noi. De asemenea, multe specii de plante vor reuși să fixeze direct azotul din aer.

Prin aceleași tehnici, o parte din biomasă va fi transformată în alcool etilic (pentru detalii, vezi Raicu, 1980).

Apariția ingineriei genetice a declanșat discuții neobișnuit de violente la care au participat, alături de geneticieni, numeroși reprezentanți ai comunității. Controversele au izbucnit în 1973 cînd a devenit evident că transplantul de gene este

Prin aceleași tehnici, o parte din biomasă va fi transfera în bacterii gene oncogene sau gene capabile să specifice toxine extrem de virulente. Teama era firească. De aceea în 1974 se propune în S.U.A. un moratoriu voluntar asupra anumitor tipuri de experiențe de recombinare genetică. Cercetările urmau să fie reluate în momentul în care se precizau riscurile potențiale. În același timp s-a cerut Institutului de sănătate din Bethesda (S.U.A.) adoptarea unui cod de cercetare. Acest cod a fost adoptat un an mai tîrziu (1975). La Asilomar, în California, s-a desfășurat prima conferință consacrată manipulărilor genetice, avantajelor și mai ales riscurilor pe care le va antrena transplantul de gene. Părerile au fost împărțite. Se degaja însă impresia că manipulările genetice pot antrena pericole imprevizibile. Ca o consecință a acestor discuții, în 1976 Institutul de sănătate din Bethesda publică un cod în care sînt specificate nu numai condițiile în care se pot desfășura experimentele, dar și cercetările potențial periculoase. De pildă, sînt considerate experiențe cu risc mare toate experimentele în care sînt utilizați agenți biologici care în mod obișnuit produc tulburări grave, la om sau la animal, și care sînt transmisibile direct sau indirect de la un individ la altul. Asemenea experiențe pot avea loc doar în laboratoare de maximă securitate, laboratoare din care, cel puțin teoretic, nu pot scăpa bacteriile transformate.

Vor fi folosite doar bacterii manipulate genetic incapabile să supraviețuiască în afara laboratorului (*Escherichia coli* K-12).

Sub presiunea opiniei publice, Academia de științe din Washington inițiază primele dezbateri publice. Iar în 1977 Congresul Statelor Unite începe audierile asupra ingineriei genetice, deși marea majoritate a geneticienilor prezenți la conferința consacrată acizilor nucleici cer Congresului să nu adopte nici un fel de măsuri legislative.

Între timp a devenit aproape cert că manipulările genetice în forma lor actuală nu implică riscuri. În orice caz, nu creează pericole mai mari decît cele pe care le implică fizica nucleară, de pildă. Iată cîteva dintre faptele care susțin această afirmație:

— Petrocheilou și Richmond (1977) au remarcat că bacteriile folosite în manipulările genetice au transferat excepțional de rar plasmide bacteriilor din flora intestinală a celor care au efectuat timp de doi ani cercetări de inginerie genetică.

— introducerea unor gene virale cancerigene în bacterii urmată de inocularea bacteriilor animalelor de experiență nu mărește incidența tumorilor maligne.

— este extrem de dificil să se creeze un organism periculos chiar în condiții tehnice optime.

De aceea se cere din ce în ce mai insistent Institutului de Sănătate din Bethesda să relaxeze măsurile adoptate. Se susține printre altele că datorită acestor măsuri ingineria genetică a pierdut 2 ani. Este vorba doar despre cercetările efectuate pe bacterii. Nu se știe dacă și cînd vor fi permise experiențe pe mamifere.

Oricum, ingineria genetică este una dintre marile realități ale științei contemporane.

BIBLIOGRAFIE

ADAM, A., MWESIGYE, E., TABANI, E., Amer. J. Phy. Antrop., 1970, 32, 1, 59.
ADAM, J., WARD, R. H., Science, 1973, 180, 1137.
AEBI, H., JENNET, F., RICHTERICH, R., SUTER, H., BÜTLER, R., FREY, J., MART, H. R., Enzymol. Biol. Clin., 1962, 2, 1.
AIRD, I., BENTALL, H. H., ROBERTS, J.A.F., Brit. Med. J., 1953, 1, 799.
ALLISON, A. C., Trans. Roy. Trop. Med. Hyg., 1954, 48, 312.
ALISSON, A. C., Ann. Hum. Genet., 1956, 21, 67.
ANDERSON, D. E., Cancer, 1974, 34, 1090.
AVERY, O. T., MACLEOD, C. M., Mc CARTY, M., J. Exp. Med., 1944, 29, 137.
AYALLA, B., Sci. Amer., 1975, 233, 2, 50.

BACQ, Z. M., Rev. Med. Liège, suppl. 1, 1968, 23, 174.
BARR, M. L., SERGOVICH, F. R., CARR, D. H., SHAVER, E. L., Canad. Med. J., 1969, 101, 247.
BATTJE, J., HEHUNSTRE, J. P., Bordeaux Méd., 1979, 12, 22, 1419.
BETZ, A., TURLEAU, C., GROUCHY, J. dé. Ann. Génét., 1974, 17, 77.
BODMER, W. F., Brit. Med. Bull., 1978, 34, 3, 213.
BOQUET, CH., *Précis de génétique formelle*. Press. Univ, France, Paris, 1974.
BOSTOCK, C. J., SUMNER, A. T., *The Eukariotic Chromosomes*, North Holland Publ. Co., Amsterdam, New York, Oxford, 1978.
BOUÉ, J. G., BOUÉ, A., Rev. Franç. Gynecol., 1973, 68, 11, 625.
BOUÉ, J., MORER, I., LAISNEY, V., BOUÉ, A., La Nouv. Press. Med., 1979, 8, 37, 2949.
BOUÉ, A., BOUÉ, J., DREYFUS, J. C., ROSA, C., Méd. et Hyg., 1979, 37, 2914.
BOYD, W. C., *Genetics and the Races of Man*, Little Brown Co., Boston, 1950.
BRANDON, S. W., *Int. Symp. of late Biological Effects of Ionizing Radiation*, 1978, Viena, 1978.
BRENT, R. L., J. Pediat., 1967, 10, 37.
BRITTEN, R. J., DAVIDSON, E. H., Science, 1969, 165, 349.
BROCK, D. J. H., SUTCLIFFE, R. G., Lancet, 1972, 2, 197.
BROWN, S. W., CHANDRA, H. S., Proc. Nat. Acad. Sci. USA (WAsh.), 1973, 70, 195.